



按照专利合作条约 (PCT) 所公布的国际申请

(51) 国际专利分类号: C07J 17/00, 43/00, 51/00, A61K 31/58	A1	(11) 国际公布号: WO99/16786 (43) 国际公布日: 1999年4月8日(08.04.1999)
(21) 国际申请号: PCT/CN98/00204 (22) 国际申请日: 1998年9月28日(28.09.1998) (30) 优先权: 97119680.X 1997年9月26日(26.09.1997) CN (71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 中国人民解放军军事医学科学院放射医学研究所(INSTITUTE OF RADIATION MEDICINE, ACADEMY OF MILITARY MEDICAL SCIENCES OF THE PLA) [CN/CN]; 中国北京市太平路27号, 邮政编码:100850, Beijing (CN). (72) 发明人;及 (75) 发明人/申请人(仅对美国): 马百平(MA, Beiping) [CN/CN]; 董俊兴(DONG, Junxing) [CN/CN]; 王秉伋(WANG, Bingji) [CN/CN]; 中国北京市太平路27号放射医学研究所, 邮政编码:100850, Beijing (CN). (74) 代理人: 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所(CC-PIT PATENT AND TRADEMARK LAW OFFICE); 中国北京市阜成门外大街2号8层, 邮政编码:100037, Beijing (CN).		(81) 指定国: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO专利(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG) 本国际公布: 包括国际检索报告。

(54) Title: THE USE OF STEROID SAPONIN COMPOUNDS TO PREVENT SENILITY, AND NOVEL STEROID SAPONIN COMPOUNDS

(54) 发明名称: 甾体皂甙防治老年性痴呆的用途及新的甾体皂甙

(57) Abstract

The present invention relates to the use of steroid saponin compounds of formula (I) to prophylactic and therapeutic treatment of senility, for example Alzheimer's disease, and to novel steroid saponin compounds of formula (II), and the composition containing formula (I).

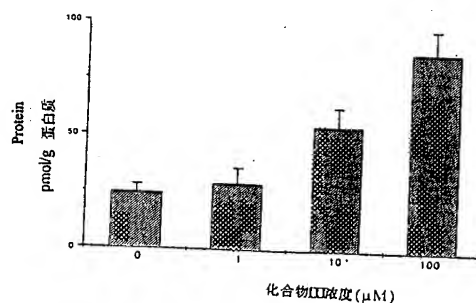
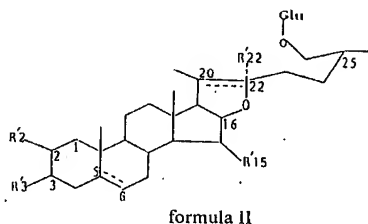
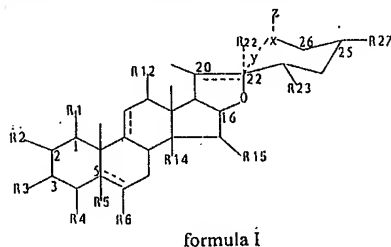


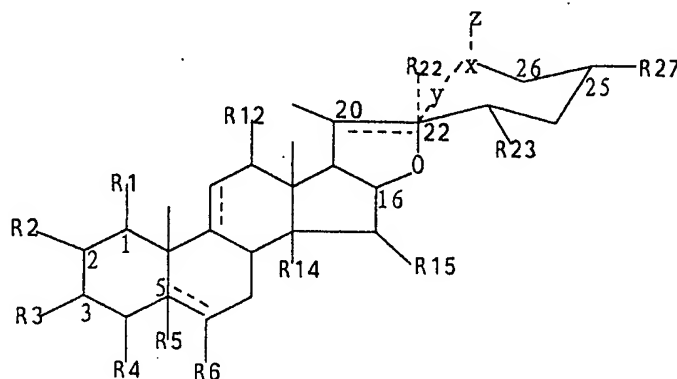
Fig. 4

(³H) Epibatidine 与用化合物 III 处理的 SY-SY5Y 细胞的专一结合

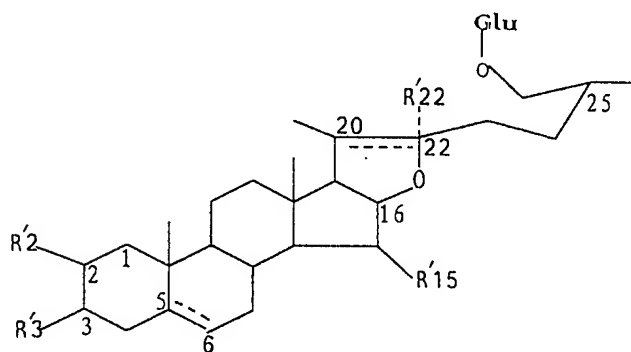
Concentration of compound III (μM)
[³H] The sole combination of Epibatidine and SY-SY5Y cell treated by compound III

(57) 摘要

本发明涉及式 I 甾体皂甙类化合物防治老年性痴呆的用途, 新的式 II 甾体皂甙及含有所述式 I 甾体皂甙的药物组合物。



通式 I



通式 II

以下内容仅供参考

在按照 PCT 所公布的国际申请小册子首页上所采用的 PCT 成员国国家代码如下:

AE 阿拉伯联合酋长国	DK 丹麦	KP 朝鲜民主主义人民共和国	PT 葡萄牙
AL 阿尔巴尼亚	EE 爱沙尼亚	KR 韩国	RO 罗马尼亚
AM 亚美尼亚	ES 西班牙	KZ 哈萨克斯坦	RU 俄罗斯联邦
AT 奥地利	FI 芬兰	LC 圣卢西亚	SD 苏丹
AU 澳大利亚	FR 法国	LI 列支敦士登	SE 瑞典
AZ 阿塞拜疆	GA 加蓬	LK 斯里兰卡	SG 新加坡
BA 波斯尼亚-黑塞哥维那	GB 英国	LR 利比里亚	SI 斯洛文尼亚
BB 巴巴多斯	GD 格陵兰	LS 莱索托	SK 斯洛伐克
BE 比利时	GE 格鲁吉亚	LT 立陶宛	SL 塞拉利昂
BF 布基纳法索	GH 加纳	LU 卢森堡	SN 塞内加尔
BG 保加利亚	GM 冈比亚	LV 拉托维亚	SZ 斯威士兰
BJ 贝宁	GN 几内亚	MC 摩纳哥	TD 乍得
BR 巴西	GR 希腊	MD 摩尔多瓦共和国	TG 多哥
BY 白俄罗斯	GW 几内亚比绍	MG 马达加斯加	TJ 塔吉克斯坦
CA 加拿大	HR 克罗地亚	MK 前南斯拉夫马其顿共和国	TM 土库曼斯坦
CF 中非共和国	HU 匈牙利	ML 马里	TR 土耳其
CG 刚果	ID 印度尼西亚	MN 蒙古	TT 特立尼达和多巴哥
CH 瑞士	IE 爱尔兰	MR 毛里塔尼亚	UA 乌克兰
CI 科特迪瓦	IL 以色列	MW 马拉维	UG 乌干达
CM 喀麦隆	IN 印度	MX 墨西哥	US 美国
CN 中国	IS 冰岛	NE 尼日尔	UZ 乌兹别克斯坦
CU 古巴	IT 意大利	NL 荷兰	VN 越南
CY 塞浦路斯	JP 日本	NO 挪威	YU 南斯拉夫
CZ 捷克共和国	KE 肯尼亚	NZ 新西兰	ZA 南非
DE 德国	KG 吉尔吉斯斯坦	PL 波兰	ZW 津巴布韦

甾体皂甙防治老年性痴呆的用途及新的甾体皂甙

发明所属领域

本发明涉及用于防治老年性痴呆（如阿尔茨海默氏痴呆、血管性痴呆及其它类型痴呆）的甾体皂甙类化合物，新的甾体皂甙类化合物，含有它们的药物组合物。

背景技术

老年性痴呆是老年人多发性疾病，是神经病学中一组原因未明的进行性精神功能衰退性疾患。其主要包括阿尔茨海默氏痴呆（Alzheimer's Disease）、血管性痴呆、混合型和其他型痴呆。据报道，国外老年性痴呆的患病率，在 65 岁以上的老人中占 3-8%，在 80 岁以上的老年人中高达 20%。最近上海与美国协作进行的老年性痴呆调查结果表明，上海地区 65 岁以上的老人中的痴呆总患病率为 4.36%。随着社会的进步，人类的寿命延长，世界各国将先后进入老龄化社会，患病人数也将大大增加。老年痴呆已成为一个亟待解决的医学和社会问题。

近年，研究开发防治老年性痴呆的药物受到广泛的重视。现在研究开发的防治老年性痴呆的药物主要为胆碱酯酶抑制剂（如四氢氨基吡啶、石杉碱甲）、血管扩张剂（如麦角溴烟酯）、钙通道阻滞剂（如尼莫地平）和神经生长因子等；虽有新药不断问世，但尚未得到理想的治疗药物。研究开发防治老年性痴呆的有效药物，将具有重大的社会意义和经济效益。

甾体皂甙是一类由螺甾烷类化合物衍生的寡糖甙。甾体皂甙在植物界分布很广泛，单子叶植物和双子叶植物中均有分布，尤以薯蓣科、百合科、玄参科、蓼科、龙舌兰科等植物中分布较普遍，如植物穿龙薯蓣（*Dioscorea nipponica* Makino）、黄山药（*Dioscorea panthaica* Prain et Burk）、大蒜（*Allium sativum* L.）、

知母 (*Anemarrhena asphodeloides* Bge.)、重楼 (*Paris polyphylla*)、玉竹 (*polygonatum odoratum* (Mill) Drace)、麦冬 (*Ophiopogon japonicus*)、番麻 (*Agave americana* L.) 等。甾体皂甙以其甙元作为合成甾体避孕药和激素类药物的原料而著名, 比其直接作为药用更为重要。但某些甾体皂甙也具有抗肿瘤、降血糖、免疫调节、降胆固醇、抗菌、防治心血管疾病等活性, 如中药重楼中的皂甙 I 和皂甙 IV 对 P₃₈₈、L-1210、KB 细胞有细胞毒作用; 知母中伪原知母皂甙 AIII 和原知母皂甙 AIII 对四氢吡啶糖尿病模型和链脲佐菌素糖尿病模型的小鼠口服给药有降低血糖的作用; 山麦冬中的皂甙可增加小鼠的免疫功能; 前苏联学者发现甾体皂甙可降低胆固醇, 其中螺甾皂甙比呋甾皂甙的活性强; 由于甾体皂甙能与细菌细胞膜中胆固醇形成复合物而具抗菌活性; 盾叶薯蓣水溶性皂甙可减轻心绞痛、调节新陈代谢, 治疗冠心病有效。

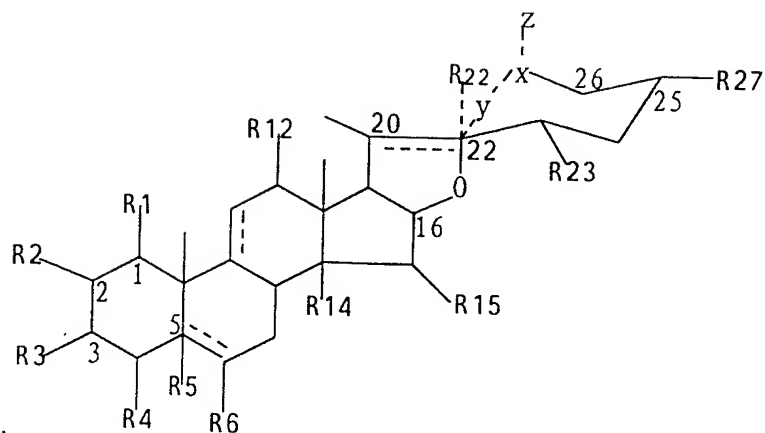
发明目的

本发明的目的是提供一类新的防治老年性痴呆的药物, 其具有优良的疗效且副作用很低。

发明简述

本发明人经广泛深入的研究, 出人意料地发现下面式 I 所代表的甾体皂甙可以扩张脑基底动脉, 改善脑循环代谢; 可以明显地增加烟碱样乙酰胆碱受体 (N 受体) 的数量; 可以促进神经细胞生长; 可以清除自由基。尤其是通过 SY - SY5Y 及 M10 两个细胞系的培养实验发现, 本发明化合物能有效地增加 N 受体的数量, 其作用强度与烟碱类似, 且具有量效关系。由此该式 I 化合物可用作防治痴呆药物。本发明基于上述发现得以完成。

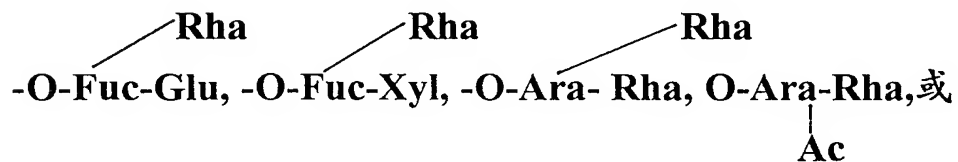
本发明第一方面涉及通式 (I) 甾体皂甙化合物及其立体异构体用于防治老年性痴呆



通式 I

其中

R_1 为氢, -OH, -O--Xyl, -O-Ara-Rha, -O-Fuc-Rha, -O-Ara-Rha,



R_2 为氢, -OH, -O-Fuc, -O-Rha, 或 -O-Glu;

R_3 为 -OH, -OCOCH₃, -OCOC₁₅H₃₁, 或氧代(=O), 或

-O-Gal,

-O-Glu,

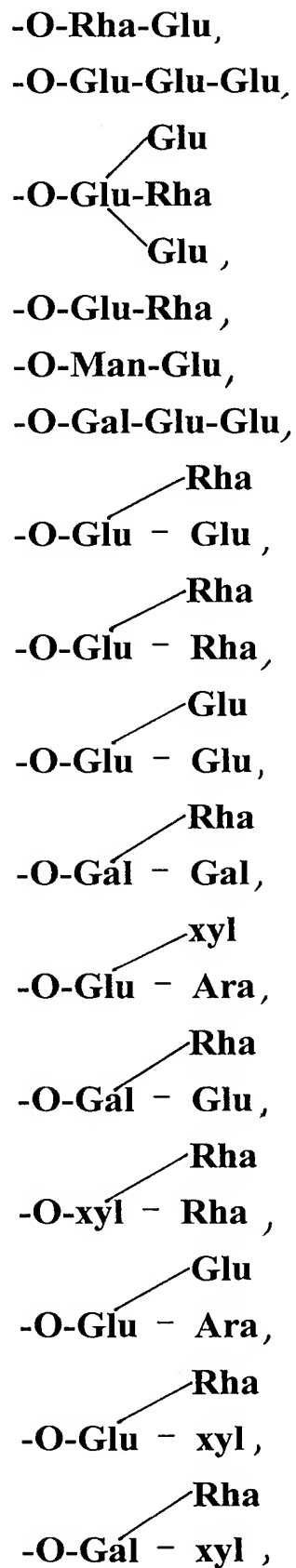
-O-Gal-Glu,

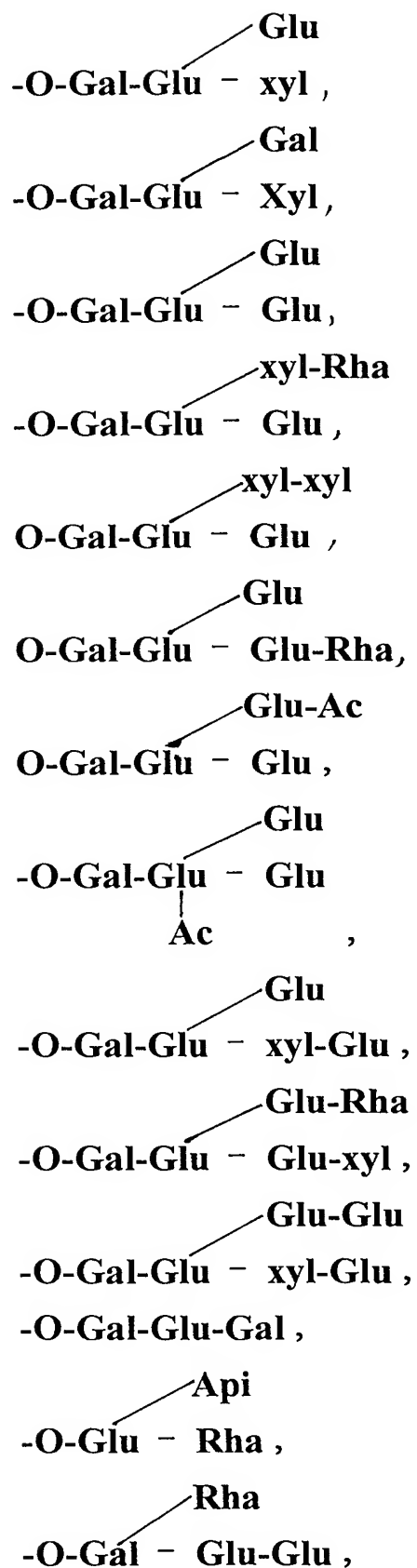
-O-Glu-Glu,

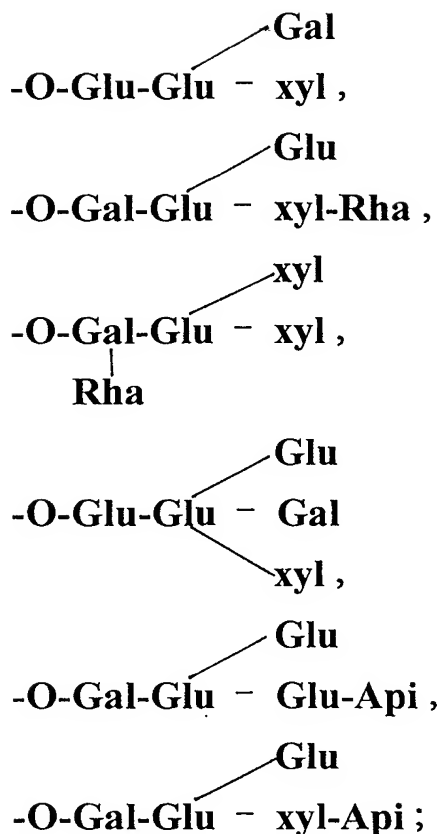
-O-Glu-Ara,

-O-Fuc-Glu,

-O-Rha,







R_4 为氢, -OH, 或 $-\text{OSO}_3\text{Na}$,

R_5 为氢, 羟基, $-\text{O-Glu}$, 或不存在,

R_6 为氢, OH, 氧代(=O), $-\text{O-Qui-Rha}$, 或 $-\text{O-Qui-Xyl}$;

R_{12} 为氢, -OH, 或氧代(=O);

R_{14} 为氢, 或 -OH;

R_{15} 为氢, 或 -OH;

R_{22} 为 -OH, $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$, $n=0\sim 3$, 或不存在

R_{23} 为氢, 或 -OH;

R_{27} 为 $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, 或 $=\text{CH}_2$;

X 为 O, 或 NH;

\cdots 表示单键或双键,

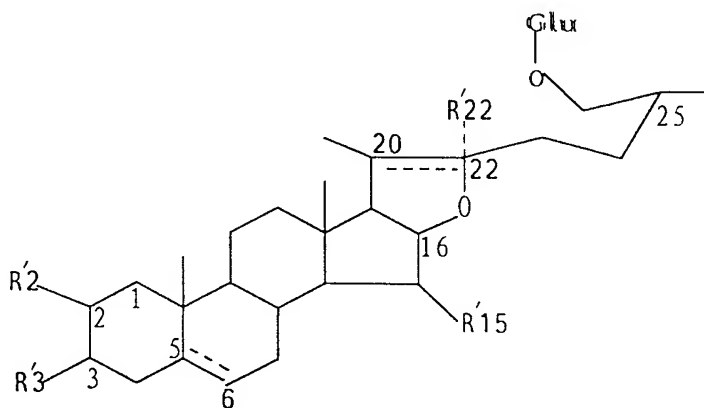
Y 为一根直键或不存在,

Z 为 Glu 或不存在。

条件是不包括 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=\text{H}, R_3=\beta-$

OH, $R_5 = \beta\text{-H}$, $X = \text{O}$, \cdots 为单键, Y 为一直键, R_{22} 不存在, Z 不存在, R_{27} 为 $-\text{CH}_3$, C_{25} 为 S 构型的式 I 化合物。

本发明第二方面涉及的是由通式 (II) 代表的新的甾体皂甙化合物



通式 II

其中

5 - 6 位虚线表示不存在双键, 5 位为 βH

C_{25} 为 S 构型

R'_{15} 为氢

R'_2 为 $\alpha\text{-OH}$ 或 $\beta\text{-OH}$

R'_3 为 $-\text{O-Gal} \xrightarrow{2} \text{Glu}$,

$-\text{O-Gal} \xrightarrow{2} \text{Glu} \xrightarrow{2} \text{Glu}$,

$-\text{O-Gal} \xrightarrow{4} \text{Glu} \xrightarrow{2} \text{Glu}$,

$-\text{O-Gal} \xrightarrow{4} \text{Glu} \xrightarrow{3} \text{Glu}$,

$-\text{O-Gal} \xrightarrow{4} \text{Glu} \xrightarrow{2} \text{Glu} \xrightarrow{3} \text{Xyl}$,

$-\text{O-Gal} \xrightarrow{4} \text{Glu} \xrightarrow{2} \text{Gal} \xrightarrow{3} \text{Xyl}$,

R'_{22} 为 OH, 或 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$, $n=0\sim3$, 或 R'_{22} 不存在同时 20 -

22 位虚线表示存在双键;

或

R'_2 为氢

R'_3 为 $-O-Gal-Glu$,

5 - 6 位虚线表示不存在双键, 5 位为 βH

C_{25} 为 S 构型

R'_{15} 为 $\alpha-OH$ 或 $\beta-OH$

R'_{22} 为 OH , 或 $O(CH_2)_nCH_3, n=0-3$, 或 R'_{22} 不存在同时 20 -

22 位虚线表示存在双键;

或

R'_2 为氢

5 - 6 位虚线表示存在双键

R'_{15} 为氢

C_{25} 为 R, 或 S 构型

R'_{22} 为 $O(CH_2)_nCH_3, n=0-3$, 或 R'_{22} 不存在同时 20 - 22 位虚

线表示存在双键

R'_3 为 $-O-Gal$,

$-O-Glu$,

$-O-Glu \xrightarrow{2} Rha$,

$-O-Glu \xrightarrow{3} Rha$,

$-O-Glu \xrightarrow{4} Rha$,

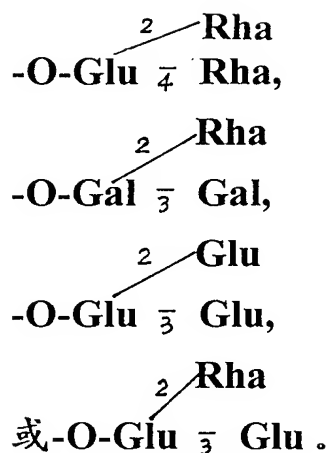
$-O-Glu \xrightarrow{4} Glu$,

$-O-Gal \xrightarrow{4} Glu \xrightarrow{2} Xyl \xrightarrow{3} Glu$,

$-O-Gal \xrightarrow{4} Glu$,

$-O-Glu \xrightarrow{2} Rha \xrightarrow{4} Glu$,

Rha



本发明再一方面涉及的是用于防治老年性痴呆的药物组合物，其包括作为活性成分的通式（I）化合物及与其混合的药用载体。

本发明再一方面涉及通式（I）化合物在制备用于防治老年性痴呆药物中的用途。

本发明再一方面涉及防治老年性痴呆的方法，该方法包括：将防治有效量的通式（I）化合物或含有它的药物组合物给药于需防治的宿主。

本发明详细描述

附图说明：

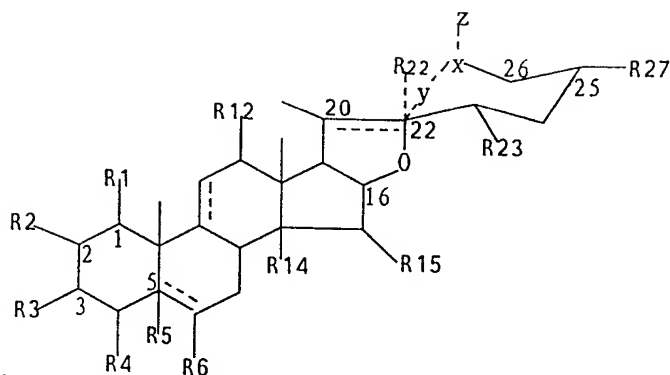
图1表示本发明化合物 III 对 KCl 引起的大鼠主动脉收缩的影响。

图2表示本发明化合物 III 对大鼠脑血流量的影响。

图3表示本发明化合物 III 对 N 受体的影响。

图4表示本发明化合物 III 对 N 受体的影响。

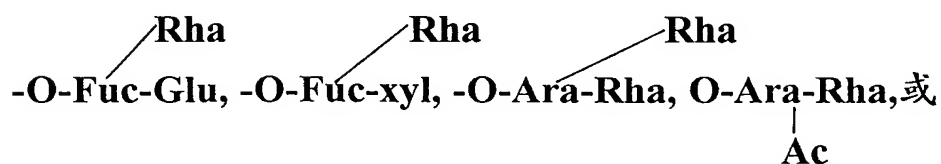
根据本发明，本发明首先涉及通式（I）化合物及其立体异构体用于防治老年性痴呆，



其中

通式 I

R_1 为氢, $-OH$, $-O-\beta\text{-xyl}$, $-O\text{-Ara-Rha}$, $-O\text{-Fuc-Rha}$, $-O\text{-Ara-Rha}$,



R_2 为氢, $-OH$, $-o\text{-Fuc}$, $-o\text{-Rha}$, 或 $-o\text{-Glu}$;

R_3 为 $-OH$, $-OCOCH_3$, $-OCOC_{15}H_{31}$ 或氧代($=O$), 或

$-O\text{-Gal}$,

$-O\text{-Glu}$,

$-O\text{-Gal-Glu}$,

$-O\text{-Glu-Glu}$,

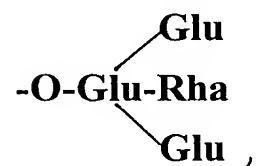
$-O\text{-Glu-Ara}$,

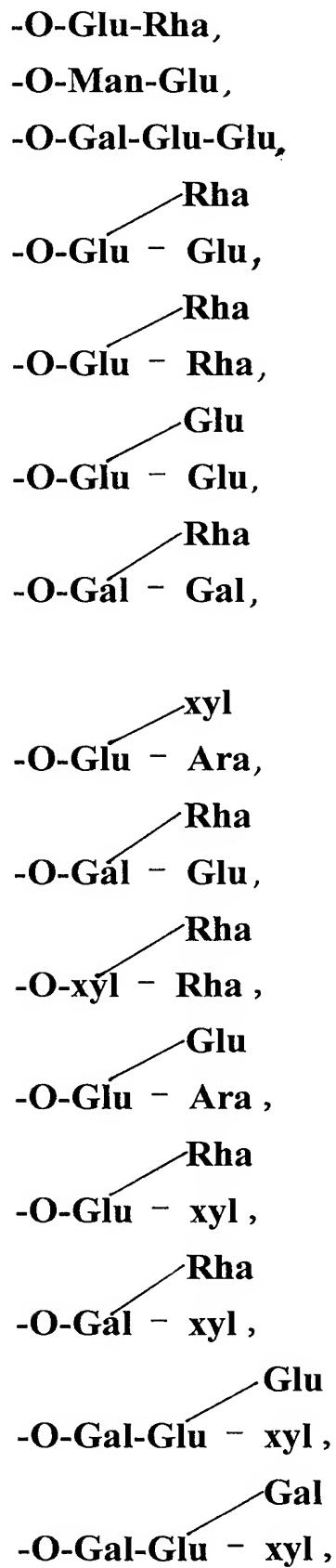
$-O\text{-Fuc-Glu}$,

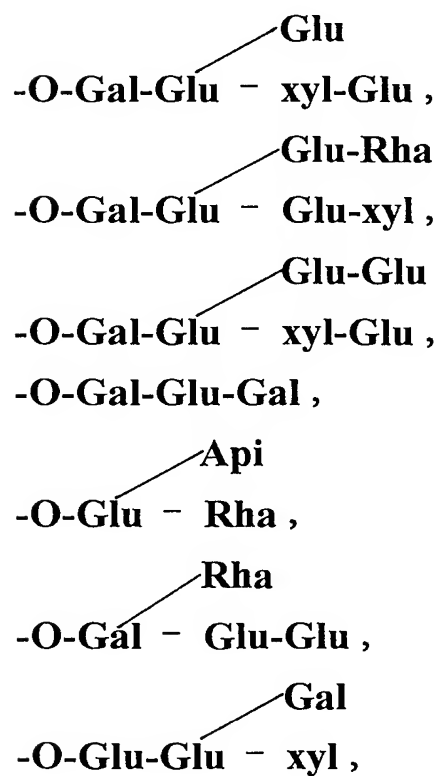
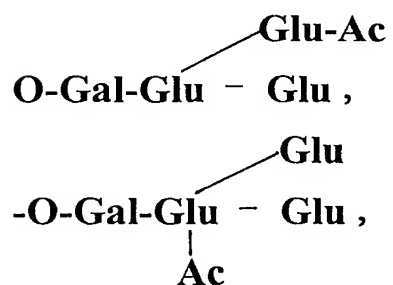
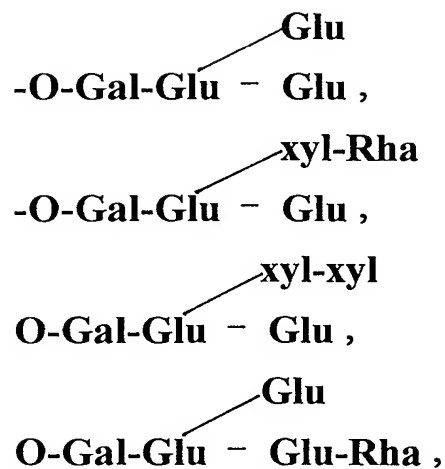
$-O\text{-Rha}$,

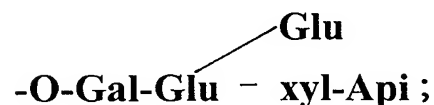
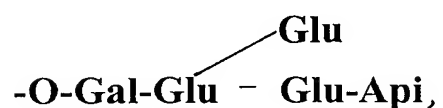
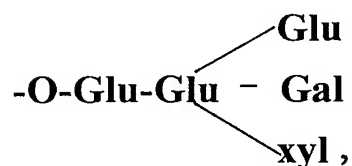
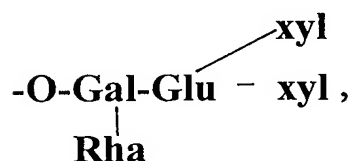
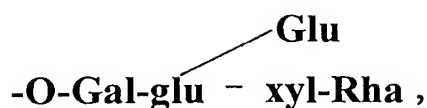
$-O\text{-Rha-Glu}$,

$-O\text{-Glu-Glu-Glu}$,









R_4 为氢, -OH, 或 $-\text{OSO}_3\text{Na}$,

R_5 为氢, 羟基, $-\text{O-Glu}$, 或不存在

R_6 为氢, OH, 氧代(=O), $-\text{O-Qui-Rha}$, 或 $-\text{O-Qui-xyl}$;

R_{12} 为氢, -OH, 或氧代(=O);

R_{14} 为氢, 或 -OH;

R_{15} 为氢, 或 -OH;

R_{22} 为 -OH, 或 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$, $n=0-3$, 或不存在;

R_{23} 为氢或 -OH;

R_{27} 为 $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, 或 $=\text{CH}_2$;

X 为 O 或 NH;

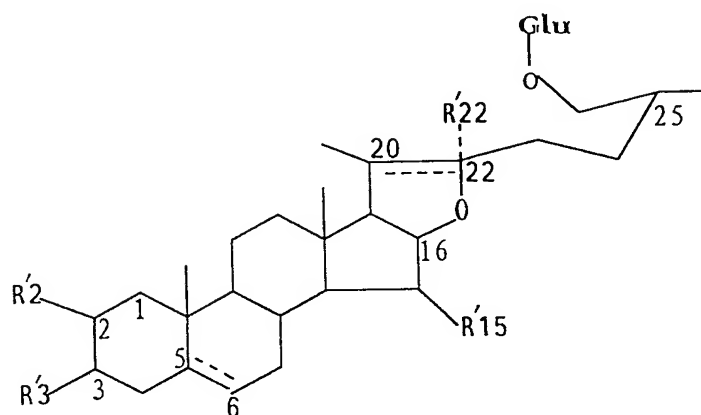
Y 为一根直键或不存在,

Z 为 Glu 或不存在;

... 表示单键或双键;

条件为不包括 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=\text{H}$, R_3 为 $\beta\text{-OH}$, R_5 为 $\beta\text{-H}$, $X=\text{O}$, Y 为一直键, R_{22} 不存在, Z 不存在, R_{27} 为 $-\text{CH}_3$, ... 为单键, C_{25} 为 S 构型的式 I 化合物。

根据本发明，本发明再一方面涉及的是通式（II）化合物



通式 II

其中

5 - 6 位虚线表示不存在双键，5 位为 β H

C₂₅ 为 S 构型

R'₁₅ 为氢

R'₂ 为 α - OH 或 β - OH

R'₃ 为 -O-Gal $\overset{2}{\text{Glu}}$,

R'₃ 为 -O-Gal $\overset{2}{\text{Glu}}$ $\overset{2}{\text{Glu}}$,

-O-Gal $\overset{4}{\text{Glu}}$ $\overset{2}{\text{Glu}}$,

-O-Gal $\overset{4}{\text{Glu}}$ $\overset{3}{\text{Glu}}$,

-O-Gal $\overset{4}{\text{Glu}}$ $\overset{2}{\text{Glu}}$ $\overset{3}{\text{Xyl}}$,

-O-Gal $\overset{4}{\text{Glu}}$ $\overset{2}{\text{Gal}}$ $\overset{3}{\text{Xyl}}$.

R'₂₂ 为 OH，或 O(CH₂)_nCH₃, n=0~3, 或 R'₂₂ 不存在同时 20 - 22 位虚线表示存在双键;

或

R'₂ 为氢

R'_3 为 $-O-Gal-Glu$

5 - 6 位虚线表示不存在双键, 5 位为 βH

C_{25} 为 S 构型

R'_{15} 为 $\alpha-OH$ 或 $\beta-OH$

R'_{22} 为 OH , 或 $O(CH_2)_nCH_3, n=0-3$, 或 R'_{22} 不存在同时 20 - 22 位虚线表示存在双键;

或

R'_2 为氢

5 - 6 位虚线表示存在双键

R'_{15} 为氢

C_{25} 为 R, 或 S 构型

R'_{22} 为 $O(CH_2)_nCH_3, n=0-3$, 或 R'_{22} 不存在同时 20 - 22 位虚线表示存在双键

R'_3 为 $-O-Gal,$

$-O-Glu,$

$-O-Glu \xrightarrow{2} Rha,$

$-O-Glu \xrightarrow{3} Rha,$

$-O-Glu \xrightarrow{4} Rha,$

$-O-Glu \xrightarrow{4} Glu,$

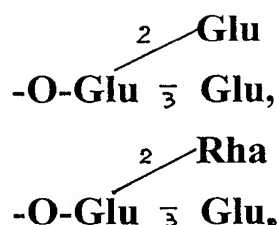
$-O-Gal \xrightarrow{4} Glu \xrightarrow{2} Xyl \xrightarrow{3} Glu,$

$-O-Gal \xrightarrow{4} Glu,$

$-O-Glu \xrightarrow{2} Rha \xrightarrow{4} Glu,$

$-O-Glu \xrightarrow{2} Rha \xrightarrow{4} Rha,$

$-O-Gal \xrightarrow{2} Rha \xrightarrow{3} Gal,$



应理解，通式 (I) 和 (II) 化合物中存在着手性碳原子，由此产生的通式 (I) 和 (II) 化合物的立体异构体也包括在本发明通式 (I) 化合物范围内。

在通式 (I) 和 (II) 中，出现的缩写如下定义：

Glu：葡萄糖 (glucose)

Gal：半乳糖 (galactose)

Rha：鼠李糖 (rhamnose)

Xyl：木糖 (xylose)

Ara：阿拉伯糖 (arabinose)

Fuc：夫糖 (fucose)

Man：甘露糖 (mannose)

Qui：鸡纳糖 (quinovose)

Api：芹糖 (apiose)

根据本发明，优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$ ， R_3 为 $-O-\beta-Gal^2-\beta-Glu$ ， $R_5=\beta-H$ ， $R_{27}=-CH_3$ ， C_{25} 为 S 构型，X 为 O，Z 为 $-\beta-Glu$ ，Y 不存在， R_{22} 不存在， $C_{20}-C_{22}$ 位 \cdots 为一个双键，其它 \cdots 为单键的化合物。

根据本发明，优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$ ， R_3 为 $-O-\beta-Glu^2-\beta-Glu$ ， $R_5=\beta-H$ ， $R_{27}=-CH_3$ ， C_{25} 为 S 构型，X 为 O，Z 为 $-\beta-Glu$ ，Y 不存在， R_{22} 不存在， $C_{20}-C_{22}$ 位 \cdots 为一个双键，其它 \cdots 为单键的化合物。

根据本发明，优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$ ， R_{22} 为 OH， R_3 为 $-O-\beta-Gal^2-\beta-Glu$ ， $R_5=\beta-H$ ， C_{25} 为 S 构型， $R_{27}=-CH_3$ ，X 为 O，Z 为 $-\beta-Glu$ ，Y 不存在， \cdots 为单键化

合物。

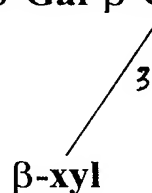
根据本发明，优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_{22} 为 $-OCH_3$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^2-\beta-Glu$, $R_5=\beta-H$, C_{25} 为 S 构型, $R_{27}=-CH_3$, X 为 O, Z 为 $-\beta-Glu$, Y 不存在, \cdots 为单键的化合物。

根据本发明，优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^4-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, $R_5=\alpha-$

$$\begin{array}{c} | \\ 3 \\ \beta\text{-xyl} \end{array}$$

H, R_{22} 不存在, $R_{27}=-CH_3$, X=O, Y 为一根直键, Z 不存在, \cdots 皆为单键, C-25 位为 R 构型的化合物。

根据本发明，优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_3 为 $-O-\beta-Gal-\beta-Glu-\beta-Glu$, $R_5=\alpha-H$, R_{22} 不存在,



$R_{27}=-CH_3$, X=O, Y 为一根直键, Z 不存在, \cdots 皆为单键, C-25 位为 S 构型的化合物。

根据本发明 (I) 化合物为其中 $R_1=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, $R_2=-\alpha-OH$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^4-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, $R_5=\alpha-H$, R_{22} 不

$$\begin{array}{c} | \\ 3 \\ \beta\text{-xyl} \end{array}$$

存在, $R_{27}=-CH_3$, X=O, Y 为一根直键, \cdots 皆为单键, Z 不存在, C-25 位为 R 构型的化合物。

根据本发明，优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, $R_2=\alpha-OH$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^4-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, $R_5=\alpha-H$, R_{22} 不

$$\begin{array}{c} | \\ 3 \\ \beta\text{-xyl} \end{array}$$

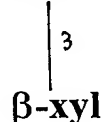
存在, $R_{27}=-CH_3$, X=O, Y 为一根直键, \cdots 皆为单键, Z 不存在, C-25 位为 S 构型化合物。

根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^4-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, R_{22} 不存在, $R_{27}=-$



CH_3 , $X=0$, Y 为一根直键, Z 不存在, $C-25$ 位为 R 构型, R_5 不存在, C_{5-6} 位 为一个双键, 其它 为单键的化合物。

根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_5 不存在, R_{22} 不存在, $R_{27}=-CH_3$, R_3 为 $-O-\beta-Gal-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, $X=0$, Y 为一根直键, Z 不存在, $C-25$



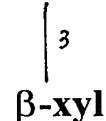
位为 S 构型, C_{5-6} 位 为一个双键, 其它 为单键的化合物。

根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, $R_2=-\alpha-OH$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^4-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, R_{22} 不存在,



$R_{27}=-CH_3$, $X=0$, Y 为一根直键, Z 不存在, $C-25$ 位为 R 构型, R_5 不存在, C_{5-6} 位 为一个双键, 其它 为单键的化合物。

根据本发明, 优选式 (I) 化合物为其中 $R_1=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, $R_2=\alpha-OH$, R_3 为 $-O-\beta-Gal-\beta-Glu^2-\beta-Glu$,



R_{22} 不存在, $R_{27}=-CH_3$, $X=0$, Y 为一根直键, Z 不存在, C-25 位为 S 构型, R_5 不存在, C₅₋₆ 位为一个双键, 其它为单键的化合物。

根据本发明, 具体优选如下的通式 (I) 化合物:

(25S)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5 β -呋甾-3 β 、26-二醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃半乳糖甙;

(25S)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5 β -呋甾-2 β 、3 β 、26-三醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃半乳糖甙;

(25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3 β 、26-二醇-3-O- α -L-吡喃鼠李糖基(1 \rightarrow 2)[β -D-葡萄糖吡喃糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖甙;

(25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3 β 、26-二醇-3-O- α -L-吡喃鼠李糖基(1 \rightarrow 2)[α -L-吡喃鼠李糖基(1 \rightarrow 4)]- β -D-吡喃葡萄糖甙;

(25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3 β 、26-二醇-3-O- β -D-吡喃半乳糖基(1 \rightarrow 2)[β -D-吡喃半乳糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖甙;

(25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3 β 、26-二醇-3-O- α -L-吡喃鼠李糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃葡萄糖甙;

(25S)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-5 β -呋甾-20(22)-烯-3 β 、26-二醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃半乳糖甙;

根据本发明, 具体优选如下的通式 (II) 化合物:

(25S)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5 β -呋甾-2 β , 3 β , 26-三醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃半乳糖甙;

(25S)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-甲氧基-5 β -呋甾-2 β , 3 β , 26-三醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃半乳糖甙;

(25S)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-5 β -呋甾-20(22)-烯-2 β , 3 β , 26-三醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃半乳糖甙。

(25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3 β ,26-二醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙;

(25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-甲氧基-5-烯-呋甾-3 β ,26-二醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙;

(25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-5-烯-呋甾-20(22)-烯-3 β ,26-二醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙。

根据本发明,本发明还涉及药物组合物,其包括作为活性成分的通式(I)化合物或其立体异构体及与其混合的药用载体。

根据本发明,本发明还涉及药物组合物,其包括作为活性成分的通式(II)化合物及与其混合的药用载体。

根据本发明,本发明再一方面涉及通式(I)化合物或其立体异构体在制备用于防治老年性痴呆疾病或症状的药物中的用途。

根据本发明,本发明还涉及防治老年性痴呆疾病或症状的方法,其包括将治疗有效量的通式(I)化合物或其立体异构体给药于需治疗的患者。

本发明中所用术语“老年性痴呆”是指阿耳茨海默病,血管性痴呆、混合型或其它型痴呆。

本发明的通式(I)或通式(II)化合物来自于植物,如知母,黄山药,大蒜,重楼,玉竹,麦冬,番麻等。其可通过从上述植物中提取得到或通过结构修饰得到。

工业实用性

由通式(1)化合物制成的常规药物剂型可用作药物。所述药物的制剂用常用的稀释剂(例如填料、疏松填料、粘合剂、湿润剂、崩解剂,表面活性剂、润滑剂)或赋性剂配制。药物制剂可以根据治疗目的从各种给药剂型中进行选择。一般的给药剂型是,例如片剂、丸剂、粉剂、溶液剂、悬浮剂、乳剂、颗粒剂、胶囊、栓剂、注射用制剂(例如溶液剂、悬浮剂等)等。为了将给药单元剂型制成片剂,可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子

是，例如赋性剂，如乳糖、白糖、氯化钠、葡萄糖、尿素、淀粉、碳酸钙、高岭土、结晶纤维素、硅酸等；粘合剂，如水、乙醇、丙醇、普通糖浆、葡萄糖溶液、淀粉溶液、明胶溶液、羧甲基纤维素、紫胶、甲基纤维素、磷酸钾、聚乙烯吡咯烷酮等；崩解剂，例如干燥淀粉、藻酸钠、琼脂粉、褐藻淀粉、碳酸氢钠、碳酸钙、聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯、十二烷基硫酸钠、单硬脂酸甘油酯、淀粉、乳糖等；崩解抑制剂，例如白糖、三硬脂酸甘油酯、可可脂、氢化油等吸收促进剂，例如季铵盐、十二烷基硫酸钠等；湿润剂，例如甘油、淀粉等；吸附剂，例如淀粉、乳糖、高岭土、膨润土、胶体硅酸等；润滑剂，例如精细滑石、硬脂酸盐、硼酸粉、聚乙二醇等。还可以将片状制剂进一步制成由常规的片剂包衣所包衣的片，例如糖包衣片、明胶膜包衣片、肠溶包衣片、膜包衣片、或双层片和多层片。为了将给药单元制成丸剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如赋性剂，如葡萄糖、乳糖、淀粉、可可脂、氢化植物油、高岭土、滑石等；粘合剂，如粉末状阿拉伯胶、粉末状黄蓍胶、明胶、乙醇等；崩解剂，如褐藻淀粉、琼脂等。为了将给药单元制成栓剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如聚乙二醇、可可脂、高级醇、高级醇的酯、明胶、半合成甘油酯等。为了将给药单元制成胶囊，将有效成分通式（I）化合物与上述的各种载体混合，并将由此得到的混合物置于硬的明胶胶囊或软胶囊中。为了将给药单元制成注射用制剂，将溶液剂、乳剂和悬浮剂灭菌，这些制剂最好是与血液等渗的，并且还可以使用本领域常用的所有稀释剂，例如，水、乙醇、聚乙二醇、1，3-丙二醇、乙氧基化的异硬脂醇、多氧化的异硬脂醇、聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯等。另外，为了制备等渗注射液，可以向注射用制剂中添加适量氯化钠、葡萄糖或甘油，此外，还可以添加常规的溶解添加剂、缓冲剂、局部麻醉剂等。此外，如需要，也可以向药物制剂中添加着色剂、防腐剂、香料、矫味剂、

甜味剂或其它材料。

在本发明的药物制剂中，活性成分通式（I）化合物的含量并没有特别的限制，可以从大的范围内进行适当地选择。

本发明的药物制剂的给药方法没有限制，可以根据剂型、病人的年龄、性别和其它条件的差异、症状的程度等进行给药。例如，片剂、丸剂、溶液剂、悬浮剂、乳剂、颗粒剂和胶囊进行口服给药。而注射用制剂可以单独地或与常规的输液用溶液（例如葡萄糖或氨基酸溶液）混合进行血管内给药，如需要，可将它们单独地进行肌肉内、皮内、皮下、或腹膜内给药。栓剂进行直肠给药。

本发明的药物制剂的剂量可以根据用途、病人的年龄、性别和其它条件的差异、症状的程度等进行适当的选择。

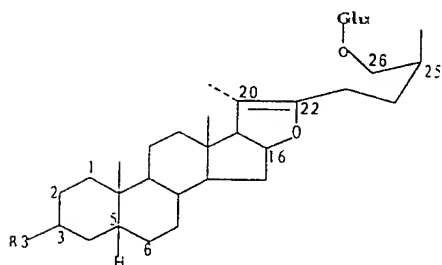
本发明通过下面实施例和药理实验进行进一步详细阐述，但这并不意味着对本发明任何限制。

中药知母为百合科 (Liliaceae) 植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的根茎，是临床常用清热泻火、生津润燥中药。我们对知母中的甾体皂甙进行了较系统的提取分离、结构鉴定和活性研究。

实施例 I

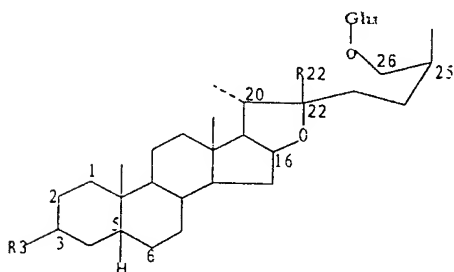
知母 3Kg，以 90 % EtOH 回流提取 3 次，减压回收 EtOH，得浸膏 700g。浸膏加水溶解，过滤，得水溶液和水不溶部分。水溶部分浓缩，n-BuOH 萃取，减压回收 n-BuOH，得浸膏 90g。n-BuOH 萃取物进行硅胶柱层析，以 CHCl₃-MeOH-H₂O (60:35:10 下层) 洗脱，每份 150ml，其中极性较大的流份 54-62 合并，再进行硅胶柱层析，以溶剂系统 CHCl₃-MeOH-H₂O (60:30:10 下层)、CHCl₃-MeOH-H₂O (55:35:10 下层) 依次洗脱，每份 100ml，合并流份 45-48，除溶剂得 1.2g。经制备型 HPLC 反复分离、纯化，减压蒸除 MeOH，冰冻干燥剩余的水，得化合物 I (28.0mg)、II (11.8mg)、III (57.4mg) 和 IV (20.0mg)。

浸膏的水不溶部分用 MeOH-CHCl₃ (1:1) 回流, 溶液浓缩得干浸膏 38g。此浸膏进行硅胶柱层析, 以 CHCl₃-MeOH-H₂O 溶剂系统洗脱, 粗分为 9 个组分, 其中组分 4 再进行硅胶柱层析, 以 CHCl₃-MeOH-H₂O (60:30:10 下层) 洗脱, TLC 检查相同者合并, 得 13 个组分(Fr.1 to Fr.13)。Fr.7 中析出白色结晶, 此结晶用 HPLC (C₁₈ 柱, MeOH-H₂O (90:10)) 分得物质 V(13.0mg) 和 VII(11.5mg), Fr.9 中析出的结晶用 HPLC (C₁₈ 柱, MeOH-H₂O (80:20)) 分为物质 VI(10.6mg) 和 VIII(11.7mg)。物质 V、VI、VII、VIII 分别为四对差向异构体的混合物, a 为 25R 异构体系列, b 为 25S 异构体。



I: R₃ = O - Cal² - Glu

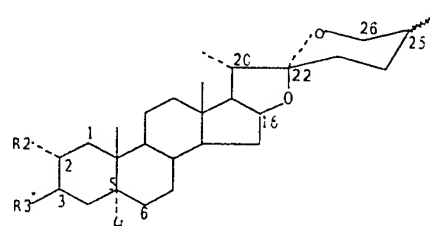
II: R₃ = O - Glu² - Glu



III: R₃ = O - Cal² - Glu, R₂₂ = OH

IV: R₃ = O - Gal² - Glu, R₂₂ = OCH₃ R₃* = O - Gal⁴ - Glu² - Glu

|₃
Xyl

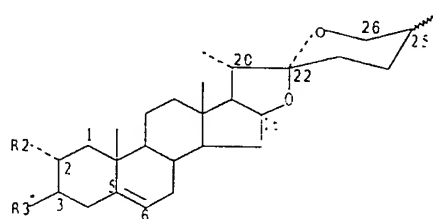


Va: 25R, R₂ = H

Vb: 25S, R₂ = H

VIa: 25R, R₂ = OH

VIb: 25S, R₂ = OH



VIIa: 25R, R₂ = H

VIIb: 25S, R₂ = H

VIIIa: 25R, R₂ = OH

VIIIb: 25S, R₂ = OH

实施例 II

知母 2Kg, 水煮提取 4 次, 提取液减压浓缩为流浸膏, 加乙醇至含醇 75 %, 静置沉淀。上清液减压回收乙醇, 再用 n-BuOH 萃取, 减压回收 n-BuOH, 得干浸膏 550g。n-BuOH 萃取物进行反复硅胶柱层析, 以 CHCl₃-MeOH-H₂O 溶剂系统洗脱, TLC 检查合并含化合物 III 的流份。此流份用 Sephadex LH-20 进行多次纯化, 得化合物 III 7.1g。

二. 结构鉴定:

化合物 I 白色无定形粉末, mp>226 °C (dec)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂亦呈阳性反应。IR(漫反射)cm⁻¹: 3368(OH), 2925, 1692(Δ 20, 22), 1075, 1039(甙键 C-O)。¹H-NMR(C₅D₅N) δ: 0.66(3H, s, 18-CH₃), 0.96(3H, s, 19-CH₃), 1.01(3H, d, J=6.8Hz, 27-CH₃), 1.60(3H, s, 21-CH₃), 4.82(1H, d, J=7.8Hz, Glc 1-H), 4.92(1H, d, J=7.8Hz, Gal 1-H), 5.27(1H, d, J=7.8Hz, Glc 1-H), 2.46(1H, d, J=10.3Hz, 17-H)。¹³C-NMR 谱数据见表 1。化合物 I 为 (25S)-26-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基-5 β-呋甾-20(22)-烯-3 β、26-二醇-3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基(1 → 2)-β-D-吡喃半乳糖甙(知母皂甙 B)。

化合物 II 白色无定形粉末, mp>212 °C (dec)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂亦呈阳性反应。元素分析: C₄₅H₇₄O₁₈ · 2.5H₂O, 计算值(%): C 57.02, H 8.34; 实验值(%): C 56.90, H 8.03。IR(漫反射)cm⁻¹: 3354(OH), 2929,

2850, 1691(Δ 20,22), 1075, 1037(甙键 C-O)。FAB-MS m/z 925(M+Na)⁺, 903(M+H)⁺, 741(M+H-Glc)⁺, 579(M+H-Glc \times 2)⁺, 417(M+H-Glc \times 3)⁺, 399(甙元+H-H₂O)⁺, 255, 185, 145。EI-MS m/z 416(甙元)⁺, 398(甙元-H₂O)⁺, 344, 343, 325, 287, 273, 255, 217, 201, 181(基峰), 163, 139, 109, 95。¹H-NMR(C₅D₅N+D₂O) δ : 0.71(3H, s, 18-CH₃), 1.01(3H, s, 19-CH₃), 1.08(3H, d, J=6.8Hz, 27-CH₃), 1.68(3H, s, 21-CH₃), 2.54(1H, d, J=10.3Hz, 17-H), 4.86(1H, d, J=7.8Hz, Glc 1-H), 4.99(1H, d, J=7.3Hz, Glc 1-H), 5.49(1H, d, J=7.3Hz, Glc 1-H)。¹³C-NMR 谱数据见表1。化合物 II 为 (25S)-26-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基-5 β -呋甾-20(22)-烯-3 β 、26-二醇-3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-葡萄糖吡喃糖甙(知母皂甙 C)。

化合物 III 白色无定形粉末, mp>243 $^{\circ}$ C(dec)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂亦呈阳性反应。IR(漫反射)cm⁻¹: 3348(OH), 2930, 2850, 1075, 1044(甙键 C-O)。FAB-MS m/z 943(M+Na)⁺, 903(M+H-H₂O)⁺, 741(M+H-H₂O-Glc)⁺, 579(M+H-H₂O-Glc \times 2)⁺, 417(M+H-H₂O-Glc \times 2-Gal)⁺, 399(甙元+H-H₂O \times 2)⁺, 255, 185, 145。EI-MS m/z 740(M-H₂O-Glc)⁺, 578(M-H₂O-Glc \times 2)⁺, 416(甙元-H₂O)⁺, 415(甙元-H-H₂O)⁺, 357, 273, 217, 181, 139。¹H-NMR(C₅D₅N) δ : 0.85(3H, s, 18-CH₃), 0.96(3H, s, 19-CH₃), 1.00(3H, d, J=6.4Hz, 27-CH₃), 1.30(3H, d, J=6.8Hz, 21-CH₃), 4.79(1H, d, J=7.8Hz, Glc 1-H), 4.90(1H, d, J=7.8Hz, Gal 1-H), 5.27(1H, d, J=7.8Hz, Glc 1-H)。¹³C-NMR 谱数据见表1。化合物 III 为 (25S)-26-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基-22-羟基-5 β -呋甾-3 β 、26-二醇-3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-半乳吡喃糖甙(prototimosaponin AIII)。

化合物IV 白色无定形粉末, mp 244 °C。 Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂亦呈阳性反应。 FAB-MS m/z 957(M+Na)⁺, 933(M-H)⁺, 903(M+H-MeOH)⁺, 741(M+H-MeOH-Glc)⁺, 579(M+H-MeOH-Glc × 2)⁺, 417(M+H-MeOH-Glc × 2-Gal)⁺, 399(甙元+H-MeOH-H₂O)⁺。 ¹H-NMR(C₅D₅N) δ: 0.78(3H, s, 18-CH₃), 0.95(3H, s, 19-CH₃), 1.03(3H, d, J=6.0Hz, 27-CH₃), 1.16(3H, d, J=6.6Hz, 21-CH₃), 3.25(3H, s, 22-OCH₃), 4.82(1H, d, J=7.7Hz, Glc 1-H), 4.90(1H, d, J=7.1Hz, Gal 1-H), 5.27(1H, d, J = 7.7Hz Glc 1-H)。 ¹³C-NMR 谱数据见表 1。 化合物 IV 为(25S)-26-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基-22-甲氧基-5 β-呋甙-3 β、26-二醇-3-O-β-D-葡萄糖吡喃糖基(1 → 2)-β-D-半乳吡喃糖甙(知母皂甙 E)。

物质V 白色无定形粉末, mp 271 °C(dec)。 Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂呈阴性反应。 IR ν_{\max} cm⁻¹: 3394, 2930, 1070, 988, 919, 896, 847. FAB-MS (positive) m/z 1057(M+Na)⁺, 1035(M+H)⁺, 925(M-Xyl+Na)⁺, 901(M-Xyl-H)⁺, 873(M-Glc+H)⁺, 741(M-Glc-Xyl+H)⁺, 579(M-Xyl-Glc × 2+H)⁺, 417(aglycone+H)⁺, 399(aglycone-H₂O+H)⁺. EI-MS m/z 416(aglycone)⁺, 398(aglycone-H₂O)⁺, 357, 347, 344, 302, 287, 273, 181, 139.

Va : ¹H-NMR(C₅D₅N) δ: 0.80(s, C-18 CH₃), 0.60(s, C-19 CH₃), 1.12(d, J=6.7Hz, C-21 CH₃), 0.67(d, J=5.5HZ, C-27 CH₃), 4.86(d, J=7.3Hz, Gal 1-H), 5.17(d, J=7.9Hz, Glc(inner) 1-H), 5.21(d, J=7.9Hz Xyl 1-H), 5.55(d, J=7.3Hz, Glc (terminal) 1-H)。 ¹³C-NMR 谱数据见表 2。 化合物 Va 为替告皂甙元-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1 → 2)[β-D-吡喃木糖基(1 → 3)]-β-D-吡喃葡萄糖基(1 → 4)-β-D-吡喃半乳糖甙(degalactotigonin)。

Vb : ¹H-NMR(C₅D₅N)δ: 0.79(s, C-18 CH₃), 0.60(s, C-19

CH₃), 1.12(d, J=6.7Hz, C-21 CH₃), 1.05(d, J=7.3Hz, C-27 CH₃), 4.86(d, J=7.3Hz, Gal 1-H), 5.17(d, J=7.9Hz, Glc(inner) 1-H), 5.21(d, J=7.9Hz Xyl 1-H), 5.55(d, J=7.3Hz, Glc(terminal) 1-H). ¹³C-NMR 谱数据见表 2。化合物 Vb 为新替告皂甙元-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1 → 2)[β-D-吡喃木糖基(1 → 3)]-β-D-吡喃葡萄糖基(1 → 4)-β-D-吡喃半乳糖甙 (diuranthoside A)。

物质 VI 白色无定形粉末, mp 247 °C (dec). Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂呈阴性反应。IR_{vmax} cm⁻¹: 3408, 2931, 2875, 1072, 987, 922, 897, 847. FAB-MS (positive) *m/z* 1073(M+Na)⁺, 1051(M+H)⁺, 595(M-Xyl-Glc × 2+H)⁺, 433(aglycone+H)⁺, 415 (aglycone - H₂O+H)⁺. EI-MS *m/z* 432(aglycone)⁺, 415(aglycone-H₂O+H)⁺, 414(aglycone-H₂O)⁺, 373, 363, 360, 342, 318, 303, 300, 289, 271, 139, 126, 115.

VIa: ¹H-NMR(C₅D₅N) δ: 0.78(s, C-18 CH₃), 0.67(s, C-19 CH₃), 1.10(d, J=6.6Hz, C-21 CH₃), 0.67(C-27 CH₃), 4.90(d, J=7.7Hz, Gal 1-H), 5.20(d, J=7.7Hz, Glc(inner) 1-H), 5.23(d, J=7.7Hz Xyl 1-H), 5.57(d, J=7.7Hz, Glc(terminal) 1-H). ¹³C-NMR 谱数据见表 2。化合物 VI a 为 支脱皂甙元-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1 → 2)[β-D-吡喃木糖基(1 → 3)]-β-D-吡喃葡萄糖基(1 → 4)-β-D-吡喃半乳糖基 (F-gitonin)。

VIb: ¹H-NMR(C₅D₅N) δ: 0.77(s, C-18 CH₃), 0.67(s, C-19 CH₃), 1.10(d, J=6.6Hz, C-21 CH₃), 1.05(d, J=7.1Hz, C-27 CH₃), 4.90(d, J=7.7Hz, Gal 1-H), 5.20(d, J=7.7Hz, Glc(inner) 1-H), 5.23(d, J=7.7Hz Xyl 1-H), 5.57(d, J=7.7Hz, Glc(terminal) 1-H). ¹³C-NMR 谱数据见表 2。化合物 VI b 为新支脱皂甙元-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1 → 2)[β-D-吡喃木糖基(1 → 3)]-β-D-吡喃葡萄糖基(1 → 4)-β-D-吡喃半乳糖甙 (知母皂甙 F)。

物质 VII 白色无定形粉末, mp 242 °C。 Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂呈阴性反应。 IR ν_{\max} cm^{-1} : 3394, 2934, 1069, 985, 919, 896, 847. FAB-MS (positive) m/z 1055(M+Na)⁺, 1033(M+H)⁺, 737(M-Glc-Xyl-H)⁺, 577(M-Xyl-Glc × 2+H)⁺, 415(aglycone+H)⁺, 397(aglycone-H₂O+H)⁺. EI-MS m/z 414(aglycone)⁺, 396(aglycone-H₂O)⁺, 355, 345, 342, 300, 282, 271, 139.

VIIa: ¹H-NMR(C₅D₅N) δ : 0.79 (s, C-18 CH₃), 0.85(s, C-19 CH₃), 1.13(d, J=6.7Hz, C-21 CH₃), 0.67(d, J=5.5HZ, C-27 CH₃), 4.87(d, J=7.4Hz, Gal 1-H), 5.16(d, J=7.9Hz, Glc(inner) 1-H), 5.22(d, Xyl 1-H), 5.55(d, J=7.9Hz, Glc (terminal) 1-H). ¹³C-NMR 谱数据见表 2。 化合物 VII a 为薯蓣皂甙元-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 → 2)[β -D-吡喃木糖基(1 → 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 → 4)- β -D-吡喃半乳糖甙 (aspidistrin)。

VIIb: ¹H-NMR(C₅D₅N) δ : 0.79(s, C-18 CH₃), 0.85(s, C-19 CH₃), 1.13(d, J=6.7Hz, C-21 CH₃), 1.05(d, J=6.7Hz, C-27 CH₃), 4.87(d, J=7.4Hz, Gal 1-H), 5.16(d, J=7.9Hz, Glc(inner) 1-H) 5.22 (d, Xyl 1-H), 5.55(d, J=7.9Hz, Glc(terminal) 1-H). ¹³C-NMR 谱数据见表 2。 化合物 VII b 为亚莫皂甙元-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 → 2)[β -D-吡喃木糖基(1 → 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基(1 → 4)- β -D-吡喃半乳糖甙 (3-O- β -lycotetrasoyl yamogenin)。

物质 VIII 白色无定形粉末, mp 258 °C(dec)。 Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应呈阳性, 对 Ehrlich 试剂呈阴性反应。 IR ν_{\max} cm^{-1} : 3414, 2940, 2902, 1071, 988, 920, 895, 849. FAB-MS (positive) m/z 1071(M+Na)⁺, 1049(M+H)⁺, 855(M-Glc-H)⁺,

753(M-Glc-Xyl-H)⁺, 593(M-Xyl-Glc × 2+H)⁺, 431 (aglycone+H)⁺, 413 (aglycone - H₂O+H)⁺, 395 (aglycone - H₂O×2+H)⁺. EI-MS *m/z* 430(aglycone)⁺, 413(aglycone-H₂O+H)⁺, 412(aglycone-H₂O)⁺, 371, 361, 358, 316, 298, 287, 269, 139, 126, 115.

VIIIa : ¹H-NMR(C₅D₅N) δ: 0.78(s, C-18 CH₃), 0.91(s, C-19 CH₃), 1.11(d, J=6.6Hz, C-21 CH₃), 0.67(d, J=5.5Hz, C-27 CH₃), 4.91(d, J=7.7Hz, Gal 1-H), 5.20(d, J=7.7Hz, Glc(inner) 1-H), 5.23(d, J=7.7Hz Xyl 1-H), 5.57(d, J=7.7Hz, Glc(terminal) 1-H). ¹³C-NMR 谱数据见表 2。化合物 VIII a 为丝兰皂甙元-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1 → 2)[β-D-吡喃木糖基(1 → 3)]-β-D-吡喃葡萄糖基(1 → 4)-β-D-吡喃半乳糖甙 (karatavioside A)。

VIIIb : ¹H-NMR(C₅D₅N) δ: 0.78(s, C-18 CH₃), 0.91(s, C-19 CH₃), 1.11(d, J=6.6Hz, C-21 CH₃), 1.05(d, J=7.1Hz, C-27 CH₃), 4.91(d, J=7.7Hz, Gal 1-H), 5.20(d, J=7.7Hz, Glc(inner) 1-H), 5.23(d, J=7.7Hz Xyl 1-H), 5.57(d, J=7.7Hz, Glc(terminal) 1-H). ¹³C-NMR 谱数据见表 2。化合物 VIII b 为利拉皂甙元-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1 → 2)[β-D-吡喃木糖基(1 → 3)]-β-D-吡喃葡萄糖基(1 → 4)-β-D-吡喃半乳糖甙 (知母皂甙 G)。

表 1. 化合物 I - IV 的 ¹³C - NMR 化学位移 (C₅D₅N)

碳	I	II	III	IV
甙元				
1	30.9	30.7	30.9	30.9
2	26.9	26.9	27.0	27.0
3	75.1	75.2	75.0	75.2

4	30.9	30.9	30.9	31.0
5	36.9	36.8	36.9	36.9
6	26.8	26.8	26.7	26.7
7	26.8	26.8	26.7	26.7
8	35.1	35.1	35.4	35.5
9	40.1	40.1	40.2	40.2
10	35.2	35.1	35.2	35.2
11	21.2	21.3	21.1	21.0
12	40.0	40.0	40.4	40.5
13	43.8	43.8	41.2	41.2
14	54.7	54.7	56.4	56.4
15	31.3	31.3	32.4	32.1
16	84.5	84.5	81.2	81.4
17	64.6	64.6	64.0	64.4
18	14.6	14.3	16.7	16.5
19	24.0	24.0	24.0	24.0
20	103.5	103.5	40.6	41.2
21	11.8	11.8	16.4	16.4
22	152.3	152.3	110.6	112.6
23	34.4	34.3	37.1	30.9
24	23.6	23.6	28.3	28.2
25	33.7	33.6	34.4	34.4
26	75.2	75.2	75.3	75.2
27	17.1	17.1	17.4	17.5
OCH ₃				47.3
半乳糖或葡萄糖 (3 位内侧)				
1	102.6	101.9	102.5	102.5
2	81.8	83.1	81.8	81.7

3	76.9	78.5	76.9	76.9
4	69.8	71.7	69.8	69.8
5	76.6	78.2	76.5	76.6
6	62.1	62.8	62.1	62.1
葡萄糖 (3 位末端)				
1	106.1	105.9	106.1	106.0
2	75.5	77.0	75.5	75.4
3	78.0	77.9	78.0	78.0
4	71.6	71.5	71.6	71.7
5	78.4	78.5	78.4	78.5
6	62.7	62.6	62.7	62.8
葡萄糖 (26 位)				
1	105.1	105.1	105.1	105.0
2	75.2	75.2	75.2	75.0
3	78.5	78.5	78.5	78.6
4	71.6	71.6	71.6	71.7
5	78.5	78.2	78.4	78.4
6	62.7	62.8	62.7	62.8

表 2 化合物 V_a-VIII_b 的 ¹³C-NMR 化学位移(100MHz, in C₅D₅N)

	V _a	V _b	VI _a	VI _b	VII _a	VII _b	VIII _a
VIII _b							
貳元							
1	37.1		45.5		37.5		45.7
2	29.8		70.7		30.1		70.7

3	77.4		84.2		78.3		84.4	
4	34.8		34.0		39.2		37.6	
5	44.6		44.5		141.0		140.0	
6	28.8		28.0		121.6		121.9	
7	32.3		32.1		32.3		32.1	
8	35.2		34.5		31.8		31.0	
9	54.3		54.3		50.3		50.1	
10	35.7		36.8		37.0		37.9	
11	21.2		21.4		21.1		21.1	
12	40.1		40.0		39.9		39.7	
13	40.7		40.7		40.4		40.4	
14	56.4		56.2		56.6		56.4	
15	32.1		32.1		32.1		32.1	
16	81.1	81.2	81.2		81.1	81.2	81.1	
17	62.9	62.8	62.9		62.9	62.7	62.6	
18	16.5	16.3	16.6	16.4	16.3		16.3	
19	12.2		13.4		19.4		20.4	
20	41.9	42.4	41.9	42.4	42.0	42.5	41.9	42.4
21	15.0	14.8	15.0	14.8	15.0	14.9	15.0	14.9
22	109.2	109.7	109.2	109.7	109.3	109.8	109.2	109.7
23	31.8	26.3	31.7	26.3	31.6	26.4	31.7	26.3
24	29.2	26.1	29.2	26.2	29.3	26.2	29.2	26.1
25	30.5	27.5	30.5	27.5	30.6	27.5	30.5	27.5
26	66.8	65.0	66.8	65.0	66.9	65.1	66.8	65.0
27	17.3	16.2	17.3	16.2	17.3	16.3	17.3	16.3

半乳糖

1	102.4		103.2		102.7		103.3	
---	-------	--	-------	--	-------	--	-------	--

2	73.1	72.5	73.1	72.6
3	75.0	75.1	75.1	75.1
4	79.8	79.3	79.8	79.2
5	75.3	75.7	75.3	75.6
6	60.6	60.6	60.6	60.6

葡萄糖 (内)

1	104.7	104.6	104.8	104.6
2	81.2	81.1	81.3	81.1
3	86.7	86.9	86.8	86.9
4	70.4	70.4	70.4	70.0
5	78.5	78.1	78.6	78.1
6	62.4	62.6	63.3	62.8

葡萄糖 (末端)

1	104.8	104.7	104.9	104.7
2	75.5	75.4	75.5	75.4
3	78.5	78.4	78.8	78.4
- 4	70.7	71.3	70.8	71.3
5	77.5	78.7	77.6	78.7
6	63.0	62.9	62.9	62.9

木糖

1	105.0	104.9	105.1	104.9
2	76.1	76.0	76.2	76.0
3	77.7	77.5	77.1	77.5

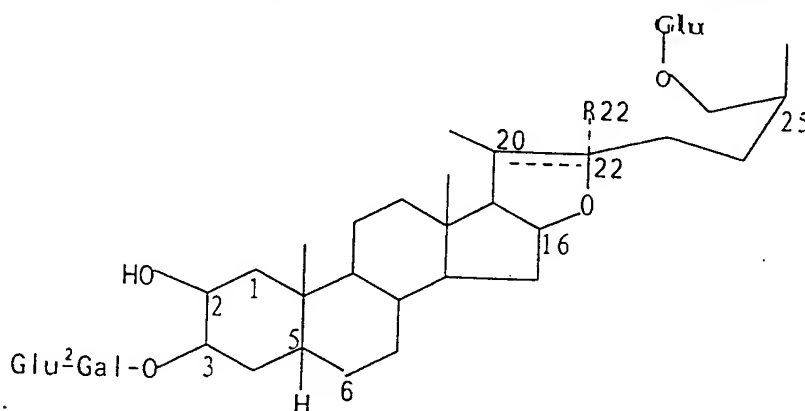
4	71.0	70.4	71.0	70.3
5	67.2	67.3	67.3	67.3

按实施例 I 或 II 的方法, 由植物中得到如下所示的化合物及其光谱。

1* (25S) -26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5β-呋甾-2β,3β,26-三醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙;

2* (25S)-26-O-β--吡喃葡萄糖基-22-甲氧基-5β-呋甾-2β,3β,26-三醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙;

3* (25S)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基 - 5β-呋甾-20(22)-烯-2β,3β,26-三醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙。



化合物 1*: R22 = OH, C₂₀ - C₂₂ 间为一单键

化合物 2*: R22 = OCH₃, C₂₀ - C₂₂ 间为一单键

化合物 3*: R22 不存在, C₂₀ - C₂₂ 间为一双键

¹³C - NMR

碳	1*	2*	3*		1*	2*	3*
1	40.6	40.6	40.6	Gal 1	106.1	106.1	106.1
2	67.2	67.2	67.2	2	75.2	75.1	75.2
3	81.8	81.8	81.8	3	78.1	78.1	78.1
4	31.9	31.9	31.9	4	71.9	71.9	71.8
5	36.6	36.6	36.6	5	78.4	78.5	78.4
6	26.6	26.6	26.6	6	62.9	62.9	62.9

7	26.3	26.3	26.3	Glu	1	103.3	103.3	103.3
8	35.6	35.6	35.6		2	81.7	81.6	81.7
9	41.5	41.5	41.5		3	77.0	77.0	77.0
10	37.1	37.1	37.1		4	69.8	69.9	69.9
11	21.4	21.4	21.5		5	76.9	76.9	76.9
12	40.4	40.4	40.0		6	62.0	62.1	62.0
13	41.3	41.3	43.9	Glu	1	105.1	105.0	105.0
14	56.3	56.3	54.6	(26 位)	2	75.2	75.1	75.2
15	32.4	32.1	31.3		3	78.6	78.6	78.6
16	81.2	81.4	84.5		4	71.8	71.7	71.8
17	64.0	64.4	64.6		5	78.4	78.4	78.4
18	16.7	16.5	14.5		6	62.9	62.8	62.9
19	23.9	24.0	23.9					
20	40.7	41.2	103.5					
21	16.4	16.4	11.8					
22	110.7	112.6	152.3					
23	37.1	30.9	34.4					
24	28.3	28.2	23.6					
25	34.4	34.4	33.6					
26	75.4	75.2	75.2					
27	17.5	17.5	17.1					
OCH ₃		47.3						

FAB-MS:

1* FAB-MS m/z:919(M+H-H₂O)⁺, 757(M+H-H₂O-Glu)⁺,595(M+H-H₂O-Glu × 2),433(M+H-H₂O-Glu × 2-Gal)⁺,415(葑元+H-H₂O × 2)⁺,271,255,145

2* FAB-MS m/z:951(M+H)⁺,919(M+H-MeOH)⁺,757(M+H-MeOH-Glu)⁺,

595(M+H-MeOH-Glu × 2)⁺, 433(M+H-MeOH-Glu × 2-Gal)⁺, 415(甙元+H-MeOH-H₂O)

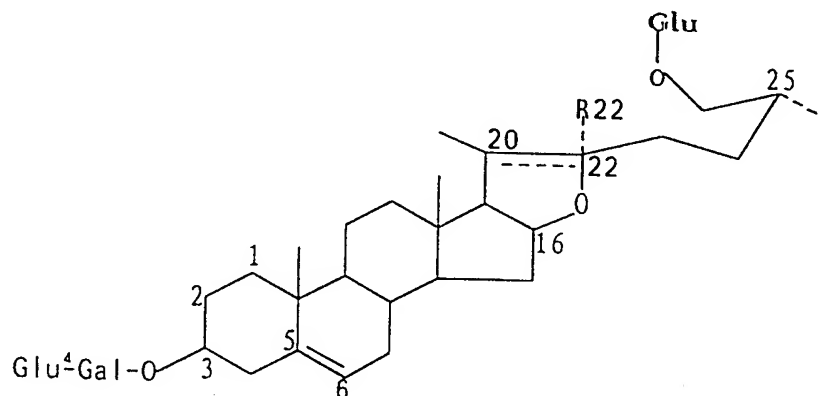
3^{*} FAB-MS m/z: 919(M+H)⁺, 757(M+H-Glu)⁺, 595(M+H-Glu × 2)⁺, 433

(M+H-Glu × 2-Gal)⁺, 415(甙元+H-H₂O)⁺

1^{**} (25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3β, 26-二醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-β-D-吡喃半乳糖甙;

2^{**} (25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-22-甲氧基-5-烯-呋甾-3β, 26-二醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-β-D-吡喃半乳糖甙;

3^{**} (25R)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5-烯-呋甾-20(22)-烯-3β, 26-二醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-β-D-吡喃半乳糖甙。



化合物 1^{**}: R22 = OH, C₂₀ - C₂₂ 间为一单键

化合物 2^{**}: R22 = OCH₃, C₂₀ - C₂₂ 间为一单键

化合物 3^{**}: R22 不存在, C₂₀ - C₂₂ 间为一双键

¹³C - NMR

	1 ^{**}	2 ^{**}	3 ^{**}		1 ^{**}	2 ^{**}	3 ^{**}
1	37.6	37.6	37.6	Gal 1	103.0	103.0	103.0
2	30.4	30.4	30.4	2	73.5	73.5	73.4
3	78.4	78.4	78.4	3	75.4	75.4	75.3
4	39.4	39.4	39.4	4	79.8	79.8	79.8
5	141.2	141.2	141.2	5	75.9	75.8	75.9

6	121.6	121.6	121.6	6	61.0	61.0	61.0
7	32.4	32.4	32.4	Glu 1	107.0	107.1	107.0
8	31.9	31.9	31.9	2	75.2	75.2	75.2
9	50.5	50.5	50.5	3	78.4	78.4	78.2
10	37.2	37.2	37.2	4	72.4	72.6	72.4
11	21.3	21.3	21.4	5	78.7	78.7	78.6
12	40.1	40.1	40.0	6	63.1	63.1	63.2
13	40.6	40.6	43.2	Glu _(26位)	104.6	104.9	104.7
				1			
14	56.8	56.8	55.1	2	75.0	75.1	75.1
15	32.4	32.4	31.3	3	78.3	78.6	78.3
16	80.9	81.2	84.2	4	71.6	71.9	71.6
17	63.6	64.2	64.2	5	78.0	78.2	77.9
18	16.5	16.3	14.3	6	62.8	63.1	62.9
19	19.4	19.5	19.4				
20	40.6	40.6	103.2				
21	16.2	16.2	11.6				
22	110.9	112.8	152.1				
23	37.0	30.9	34.3				
24	28.3	28.3	23.5				
25	34.2	34.3	33.4				
26	75.3	75.3	75.2				
27	17.4	17.2	17.1				
OCH ₃		47.4					

药理实验:

老年性痴呆是神经病学中一组原因未明的进行性精神功能衰

退性疾患，其病因较复杂。发明人从多个角度观察了知母皂甙，其中主要是化合物III，防治老年性痴呆的活性。

一. 对动物脑循环代谢的影响：

研究开发抗痴呆药物主要应根据其发病机制考虑。针对血管性痴呆，我们观察了知母皂甙对脑基底动脉的扩张作用及对整体动物脑血流的影响。

1. 知母皂甙的脑基底动脉扩张实验：

实验方法

- (1)、称取化合物I、II、III、IV各 1mg，溶于 1ml 生理盐水中，取 50 μ l 再溶于 5ml 生理盐液。
- (2)、用新鲜脑去大脑、小脑，取基底动脉中段。
- (3)、调节换能器、放大器，使笔回零。
- (4)、将基底动脉悬挂于换能器上，浸于浴槽。

实验结果：

- (1)、加入化合物III 50 μ l 后脑基底动脉轻微扩张，加入血管收缩剂 KCl 后未见血管收缩。
- (2)、在此剂量下化合物I、II、IV未见明显作用。
- (3)、此实验重复两次，均得同样结果。

以上结果表明，化合物III 在 10^{-5} g/ml(0.01mM)浓度下具有一定的脑血管扩张作用，并拮抗收缩剂引起的脑血管收缩。此剂量比同样实验条件下的阳性药川芎嗪的有效浓度还低两个数量级。

2. 大鼠主动脉扩张实验

实验方法：大鼠处死，取胸主动脉，去除结缔组织、血，浸入

Krebs-Henseleit 液，通氧，挂于换能器上，测定径向张力。结果见图 1。

由图 1 可见，化合物 III 在 0.04mM 浓度时，亦可抑制 KCl 引起的大鼠主动脉的收缩。

3. 氢清除法测定对大鼠脑血流量的影响:

在离体实验的基础上，我们进一步通过整体动物实验，观察了化合物 III 对大鼠脑血流量的影响。

1. 方法：氢清除法。
2. 仪器：LS - III 型组织血流仪。
3. 动物：Wister 大鼠，雄性。

实验方法步骤:

1. 动物用 10 % 水合氯醛麻醉，分离股总静脉，插管。
2. 用大鼠颅骨圆形开孔钻在脑皮层顶叶部位打开一颅窗，放置氢电极。
3. 动物手术完成后与血流仪、计算机连接，稳定 30min 后给药，测定，结果见下表及图 2。

化合物 III (50 μ g/Kg) 对大鼠脑血流量(rCBF)的影响

时间 (min)	大鼠 1 (ml/mg/ min)	大鼠 2 (ml/mg/ min)	大鼠 3 (ml/mg/ /min)	大鼠 4 (ml/mg/ min)	rCBF 平均 (ml/mg/min)	rCBF 变化率 (%)
0	114.17	130.86	144.25	135.97	131.3125	0
1	133.30	150.05	139.55	143.35	141.5625	7.805810
10	147.99	143.41	162.10	145.64	149.7850	14.06759
20	158.46	136.33	177.59	121.24	148.4050	13.01666
30	164.61	182.96	171.42	135.00	163.4975	24.51023
40	176.90	202.46	165.94	113.38	164.6700	25.40314

50	176.77	193.57	163.08	131.17	166.1475	26.52832
----	--------	--------	--------	--------	----------	----------

结论与讨论:

1. 实验结果显示, 化合物 III 能够增加大鼠的脑血流量, 其在 50 μ g/Kg 浓度时, 可使大鼠脑血流量 (rCBF) 增加 26.5 %。此结果说明化合物 III 可改善脑循环代谢, 对老年性痴呆, 尤其是脑血管性痴呆有一定的作用。
2. 皂甙类化合物最大的问题是溶血问题。本实验通过静脉给药, 观察到化合物 III 在此有效浓度下没有溶血作用。

二. 化合物III 对 N 受体的影响:

最新研究结果表明, 老年性痴呆与 N 受体具有密切关系。80 年代后期以来, 众多的实验几乎一致显示, 阿尔茨海默氏痴呆 (AD) 病人的脑组织 N 受体较正常人减少约 50 %; 痴呆病人脑 N 受体高、低亲和力结合位点比例失调, 高亲和力位点相对下降; AD 病人外周 N 受体数目亦降低。烟碱可以增加 N 受体的数量, 所以人们开始通过对烟碱的结构改造来寻找作用于 N 受体的抗痴呆药物。由于烟碱类的化合物为 N 受体的激动剂, 具有较大的毒副作用, 难以作为抗痴呆药物应用。通过 SY - SY5Y 及 M10 两个细胞系, 我们观察了化合物III对 N 受体的作用。

SY - SY5Y 为人的神经母细胞瘤细胞, 它表达天然的 N 和 M 受体, 而 M10 细胞则表达重组的鸡 N 受体的 a4b2 亚型。用一系列不同浓度的化合物III分别处理两个细胞系, 三天后测定 N 受体的量。结果如图 3、图 4 所示。

SY - SY5Y 及 M10 两个细胞系的实验结果均显示, 化合物III能有效地增加 N 受体的数量, 且有良好的量效关系, 其作用强度与烟碱类似。化合物III为常用中药知母的主要成分之一, 一般认为是低毒的, 由此可能找到作用于 N 受体的非烟碱类的抗痴呆药

物。

三. 胚胎大鼠海马神经细胞培养实验:

实验方法:

1. 取胚胎大鼠海马神经细胞做原代培养。
2. 将细胞用不同的条件进行培养, 每个条件有 3 或 5 个平行孔。
3. MTT 染色, 测 OD 值。

实验结果:

化合物 III 对胚胎大鼠海马神经细胞培养的作用

样品 浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	化合物 III	
	OD 平均值	细胞增殖率
空白对照	0.0624	0
0.1	0.0773	23.87821
1	0.0663	6.25000
10	0.0860	37.82051
50	0.0807	29.32692
100	0.0750	20.19231
500	0.0903	44.71154
1000	0.0673	7.85256

可见, 化合物 III 对胚胎大鼠海马神经细胞培养有一定促进作用。

四. 知母皂甙的清除自由基作用:

自由基反应, 现被认为是造成中枢神经细胞膜结构及其功能损伤

的重要因素,人们也在开发一些自由基清除剂作为抗痴呆药物。用顺磁方法观察了知母皂甙对自由基的清除作用。

1、材料和方法:

按照 Fenton 反应产生羟自由基($\bullet\text{OH}$): $5\ \mu\text{L}$ 12mM FeSO_4 、 $10\ \mu\text{L}$ 10.8mM DMPO 、加入 $5\ \mu\text{L}$ 150mM EDTA ,混合后加入 $5\ \mu\text{L}$ H_2O_2 ,再加 $25\ \mu\text{L}$ 双重水或知母皂甙,混匀后立即装入石英毛细管,1 分钟后测定。

测量在 ESP 300 型 ESR(自旋共振)波谱仪上完成。条件:室温, CF (中心磁场) = 3470GS , SW (扫宽) = 200GS MF (调制频率) = 25KHz , MA (调制幅度) = 1GS , CT (时间常数) = 84S , P (功率) = 10mw 。

分别称取化合物 I、II、III、VI、V、VI、VII、VII,加入双蒸水配制成 10mg/ml 浓度,分别以 1:1(V:V)的比例加入羟自由基体系,以同样比例的双蒸水作为空白对照,测定 ESR 波谱信号的幅度。

清除率以下式计算: $E(\%) = (\text{ho}-\text{hx})/\text{ho} \times 100$

ho 是对照体系 ESR 波谱峰高, hx 是加药后对应峰的高度。

2、实验结果:

知母皂甙对羟自由基的清除作用

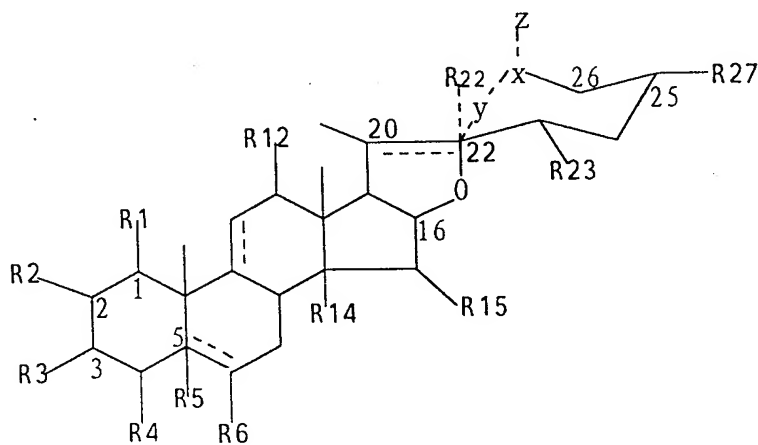
组别	浓度(mg/ml)	清除率(%)
对照	0	0.0
I	5	23.3
II	5	40.0
III	5	56.7
IV	5	33.3
V	5	23.3
VI	5	0.0

VII	5	-20.0
VIII	5	0.0

从以上的结果可以看出,知母皂甙 I、II、III、IV 对羟自由基均有一定清除作用,其中化合物 III 的作用最强(5mg/ml 浓度下清除率为 56.7%)。本实验显示:物质 V、VI、VII、VIII 对 \bullet OH 无清除作用,这可能与它们在水中不溶解有关。化合物 III 清除羟自由基的活性,也提示它对痴呆的防治活性。

权 利 要 求

1. 通式 I 化合物及其立体异构体用于防治老年性痴呆



通式 I

其中

R_1 为氢, -OH, -O-xyl, -O-Ara-Rha, -O-Fuc-Rha, -O-Ara-Rha,

$\begin{array}{ccccc} & \text{Rha} & & \text{Rha} & \\ & / & & / & \\ \text{-O-Fuc-Glu, -O-Fuc-xyl, -O-Ara-} & & \text{Rha, O-Ara-Rha, 或} & & \\ & & \backslash & & \\ & & \text{Ac} & & \end{array}$

$\begin{array}{c} \text{-O-Ara-Rha} \\ | \\ \text{Ac} \quad \text{Rha;} \end{array}$

R_2 为氢, -OH, -o-Fuc, -o-Rha, 或 -o-Glu;

R_3 为 -OH, -OCOCH₃, -OCOC₁₅H₃₁ 或氧代(=O), 或

-O-Gal,

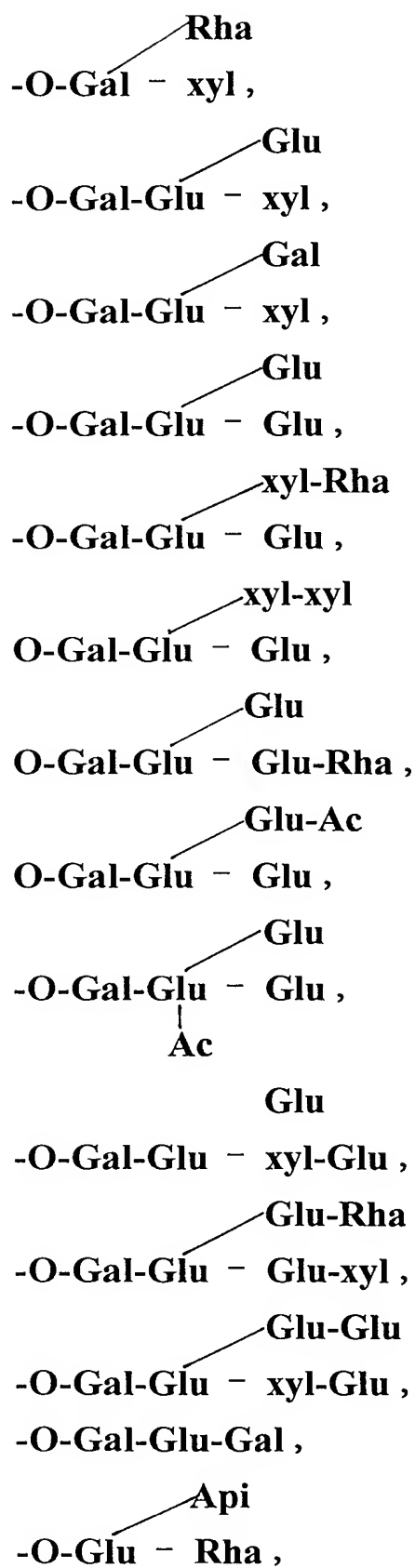
-O-Glu,

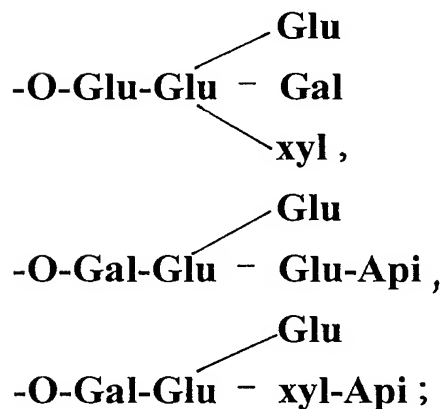
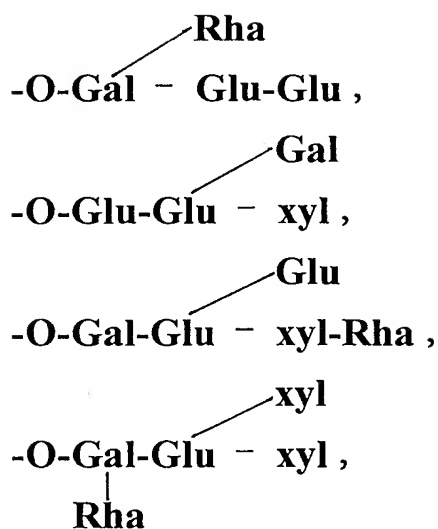
-O-Gal-Glu,

-O-Glu-Glu,

-O-Glu-Ara,

-O-Fuc-Glu ,
-O-Rha ,
-O-Rha-Glu ,
-O-Glu-Glu-Glu ,
 Glu
-O-Glu-Rha
 Glu ,
-O-Glu-Rha ,
-O-Man-Glu ,
-O-Gal-Glu-Glu ,
 Rha
-O-Glu - Glu ,
 Rha
-O-Glu - Rha ,
 Glu
-O-Glu - Glu ,
 Rha
-O-Gal - Gal ,
 xyl
-O-Glu - Ara ,
 Rha
-O-Gal - Glu ,
 Rha
-O-xyl - Rha ,
 Glu
-O-Glu - Ara ,
 Rha
-O-Glu - xyl ,





R₄ 为氢, -OH, -OSO₃Na ,

R₅ 为氢, 羟基, -O-Glu, 或不存在,

R₆ 为氢, OH, 氧代(=O), 6-O-Qui-Rha, 或 6-O-Qui-xyl;

R₁₂ 为氢, -OH, 或氧代(=O);

R₁₄ 为氢, 或 -OH;

R₁₅ 为氢, 或 -OH;

R₂₂ 为 -OH, 或 O(CH₂)_nCH₃, n=0-3 , 或不存在;

R₂₃ 为氢或 -OH;

R₂₇ 为 -CH₃ 或 -CH₂OH;

X 为 O 或 NH;

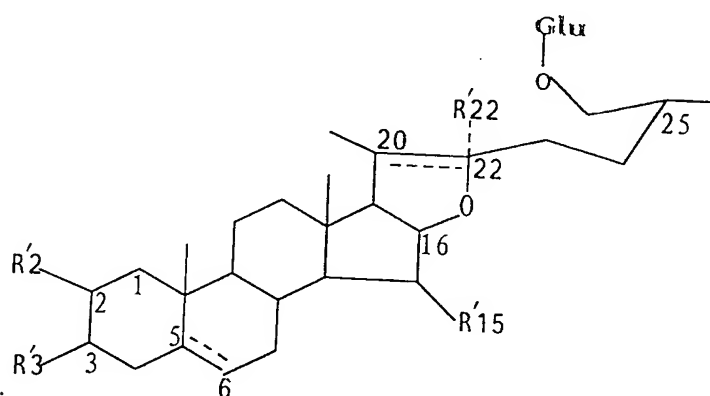
Y 为一根直键或不存在,

—表示单键或双键

Z 为 Glu 或不存在;

条件为不包括 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_3 为 β -OH, R_5 为 β -H, $X=O$, Y 为一直键, R_{22} 不存在, Z 不存在, R_{27} 为 $-CH_3$, —为单键, C_{25} 为 S 构型的式 I 化合物。

2. 下式化合物



通式 II

其中

5 - 6 位虚线表示不存在双键, 5 位为 β H

C_{25} 为 S 构型

R'_{15} 为氢

R'_2 为 α - OH 或 β - OH

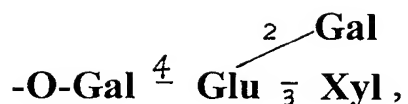
R'_3 为 $-O-Gal \xrightarrow{2} Glu$,

$-O-Gal \xrightarrow{2} Glu \xrightarrow{2} Glu$,

$-O-Gal \xrightarrow{4} Glu \xrightarrow{2} Glu$,

$-O-Gal \xrightarrow{4} Glu \xrightarrow{3} Glu$,

$-O-Gal \xrightarrow{4} Glu \xrightarrow{2} Glu \xrightarrow{3} Xyl$,



R'_{22} 为 OH, 或 $O(CH_2)_nCH_3, n=0\sim 3$, 或 R'_{22} 不存在同时 20 - 22 位虚线表示存在双键;

或

R'_2 为氢

R'_3 为 - O - Gal - Glu,

5 - 6 位虚线表示不存在双键, 5 位为 βH

C_{25} 为 S 构型

R'_{15} 为 α - OH 或 β - OH

R'_{22} 为 OH, 或 $O(CH_2)_nCH_3, n=0\sim 3$, 或 R'_{22} 不存在同时 20 - 22 位虚线表示存在双键;

或

R'_2 为氢

5 - 6 位虚线表示存在双键

R'_{15} 为氢

C_{25} 为 R, 或 S 构型

R'_{22} 为 $O(CH_2)_nCH_3, n=0\sim 3$, 或 R'_{22} 不存在同时 20 - 22 位虚线表示存在双键

R'_3 为 -O-Gal,

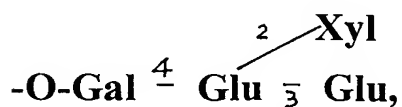
-O-Glu,

-O-Glu $\overset{2}{-}$ Rha,

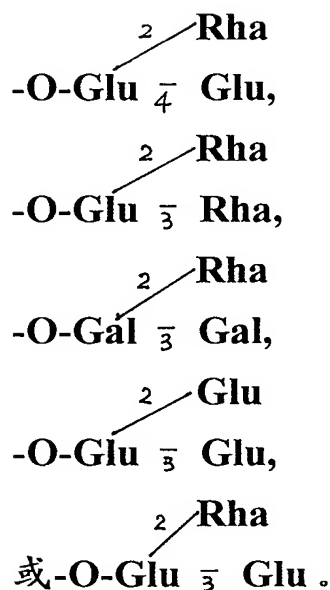
-O-Glu $\overset{3}{-}$ Rha,

-O-Glu $\overset{4}{-}$ Rha,

-O-Glu $\overset{4}{-}$ Glu,



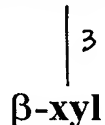
-O-Gal $\overset{4}{-}$ Glu,



3. 权利要求 1 的用途, 其中式 I 化合物为: $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_3 为 $-O-\beta\text{-Gal}^2-\beta\text{-Glu}$, $R_5=\beta\text{-H}$, $R_{27}=-\text{CH}_3$, R_{22} 不存在, C_{25} 为 S 构型, X 为 0, Z 为 $-\beta\text{-Glu}$, Y 不存在, $C_{20}\text{-}C_{22}$ 位 \cdots 为一个双键, 其它 \cdots 为单键的化合物。
4. 权利要求 1 的用途, 其中式 I 化合物为: $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_3 为 $-O-\beta\text{-Glu}^2-\beta\text{-Glu}$, $R_5=\beta\text{-H}$, $R_{27}=-\text{CH}_3$, R_{22} 不存在, C_{25} 为 S 构型, X 为 0, Z 为 $-\beta\text{-Glu}$, Y 不存在, $C_{20}\text{-}C_{22}$ 位 \cdots 为一个双键, 其它 \cdots 为单键的化合物。
5. 权利要求 1 的用途, 其中式 I 化合物为: $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_{22} 为 OH, R_3 为 $-O-\beta\text{-Gal}^2-\beta\text{-Glu}$, $R_5=\beta\text{-H}$, $R_{27}=-\text{CH}_3$, C_{25} 为 S 构型, X 为 0, Z 为 $-\beta\text{-Glu}$, Y 不存在, \cdots 为单键的化合物。
6. 权利要求 1 的用途, 其中式 I 化合物为: $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_{22} 为 $-\text{OCH}_3$, R_3 为 $-O-\beta\text{-Gal}^2-\beta\text{-Glu}$, $R_5=\beta\text{-H}$, $R_{27}=-\text{CH}_3$, C_{25} 为 S 构型, X 为 0, Z 为 $-\beta\text{-Glu}$, Y 不存在, \cdots 为单键的化合物。
7. 权利要求 1 的用途, 其中式 I 化合物为 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{22}=R_{23}=H$, R_3 为 $-O-\beta\text{-Gal}^4-\beta\text{-Glu}^2-\beta\text{-Glu}$, $R_5=\alpha\text{-H}$, $R_{27}=-\beta\text{-xyl}$

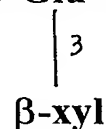
CH₃, R₂₂ 不存在, X=0, Y 为一根直键, Z 不存在, 皆为单键, C-25 位为 R 构型的化合物。

8. 权利要求 1 的用途, 其中式 I 化合物为 R₁=R₂=R₄=R₆=R₁₂=R₁₄=R₁₅=R₂₃=H, R₃ 为 -O-β-Gal⁴-β-Glu²-β-Glu, R₅=α-H, R₂₇=-



CH₃, R₂₂ 不存在, X=0, Y 为一根直键, Z 不存在, 皆为单键, C-25 位为 S 构型的化合物。

9. 权利要求 1 的用途, 其中式 I 化合物为 R₁=R₄=R₆=R₁₂=R₁₄=R₁₅=R₂₂=R₂₃=H, R₂=α-OH, R₃ 为 -O-β-Gal⁴-β-Glu²-β-Glu, R₅=α-



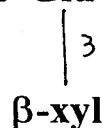
H, R₂₂ 不存在, R₂₇=-CH₃, X=0, Y 为一根直键, 皆为单键, Z 不存在, C-25 位为 R 构型的化合物。

10. 权利要求 1 的用途, 其中式 I 化合物为 R₁=R₄=R₆=R₁₂=R₁₄=R₁₅=R₂₃=H, R₂=α-OH, R₃ 为 -O-β-Gal⁴-β-Glu²-β-Glu, R₅=α-H, R₂₂



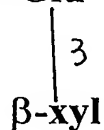
不存在, R₂₇=-CH₃, X=0, Y 为一根直键, 皆为单键, Z 不存在, C-25 位为 S 构型化合物。

11. 权利要求 1 的用途, 其中式 I 化合物为 R₁=R₂=R₄=R₆=R₁₂=R₁₄=R₁₅=R₂₃=H, R₃ 为 -O-β-Gal⁴-β-Glu²-β-Glu, R₅ 不存在, R₂₂ 不存



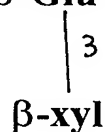
在, R₂₇=-CH₃, X=0, Y 为一根直键, Z 不存在, C-25 位为 R 构型, C₅₋₆ 位 为一个双键, 其它 为单键的化合物。

12. 权利要求 1 的用途, 其中式 I 化合物为 $R_1=R_2=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^4-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, R_5 不存在, R_{22} 不存



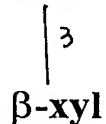
在, $R_{27}=-CH_3$, $X=0$, Y 为一根直键, Z 不存在, C-25 位为 S 构型, C_{5-6} 位...为一个双键, 其它...为单键的化合物。

13. 权利要求 1 的用途, 其中式 I 化合物为 $R_1=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, $R_2=\alpha-OH$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^4-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, R_5 不存在,



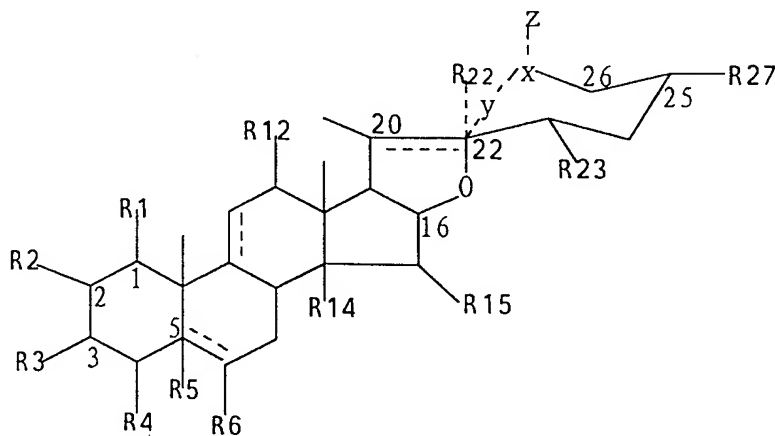
R_{22} 不存在, $R_{27}=-CH_3$, $X=0$, Y 为一根直键, Z 不存在, C-25 位为 R 构型, C_{5-6} 位...为一个双键, 其它...为单键的化合物。

14. 权利要求 1 的用途, 其中式 I 化合物为 $R_1=R_4=R_6=R_{12}=R_{14}=R_{15}=R_{23}=H$, $R_2=\alpha-OH$, R_3 为 $-O-\beta-Gal^4-\beta-Glu^2-\beta-Glu$, R_5 不存在,



R_{22} 不存在, $R_{27}=-CH_3$, $X=0$, Y 为一根直键, Z 不存在, C-25 位为 S 构型, C_{5-6} 位...为一个双键, 其它...为单键的化合物。

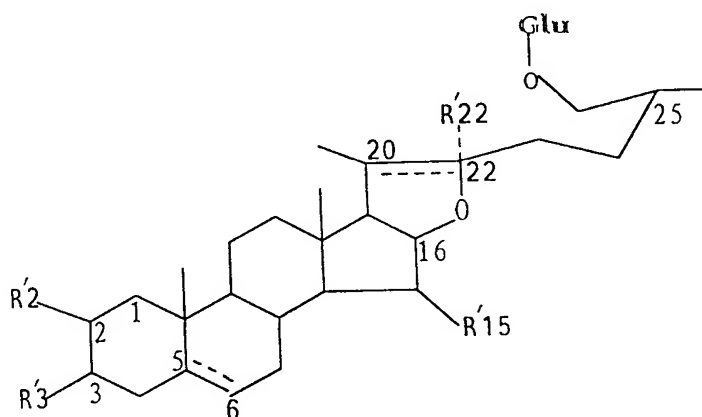
15. 式 I 化合物及其气体异构体用于制备防治老年性痴呆的药物,



通式 I

式中各基团定义同权利要求 1。

16. 药物组合物，其包括作为活性成分的式 I 化合物及其立体异构体和/或式 II 化合物，式中各基团定义分别同权利要求 1 和/或权利要求 2，及制药领域中常用的药用载体。



通式 II

17. 权利要求 1 的用途，其中式 I 化合物选自如下：

(25S)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5 β -呋甾-3 β 、26-二醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃半乳糖甙。

(25S)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5 β -呋甾-2 β 、3 β 、26-三醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃半乳糖甙

(25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3 β 、26-二醇-3-O- α -L-吡喃鼠李糖基(1 \rightarrow 2)[β -D-葡萄糖吡喃糖基(1 \rightarrow 3)]- β -D-吡喃葡萄糖甙。

(25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3 β 、26-二醇-3-O- α -L-吡喃鼠李糖基(1 \rightarrow 2)[α -L-吡喃鼠李糖基(1 \rightarrow 4)]- β -D-吡喃葡萄糖甙。

(25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3 β 、26-

二醇-3-0-β-D-吡喃半乳糖基(1→2)[β-D-吡喃半乳糖基(1→3)]-β-D-吡喃葡萄糖甙。

(25R)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3β、26-二醇-3-0-α-L-吡喃鼠李糖基(1→2)-β-D-吡喃葡萄糖甙。

(25S)-26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-5β-呋甾-20(22)-烯-3β、26-二醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙。

18. 权利要求2的化合物，其选自：

(25S)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5β-呋甾-2β, 3β, 26-三醇-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙；

(25S)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-22-甲氧基-5β-呋甾-2β, 3β, 26-三醇-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙；

(25S)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-5β-呋甾-20(22)-烯-2β, 3β, 26-三醇-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙；

(25R)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5-烯-呋甾-3β, 26-二醇-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-β-D-吡喃半乳糖甙；

(25R)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-22-甲氧基-5-烯-呋甾-3β, 26-二醇-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-β-D-吡喃半乳糖甙；

(25R)-26-0-β-D-吡喃葡萄糖基-5-烯-呋甾-20(22)-烯-3β, 26-二醇-3-0-β-D-吡喃葡萄糖基(1→4)-β-D-吡喃半乳糖甙。

19. 防治老年痴呆的方法，其包括给需要的人类给予防治有效量的式I化合物或其立体异构体或权利要求15的药物组合物。

20. 权利要求1的用途，其中老年性痴呆是阿尔茨海默氏病、血管性痴呆、混合型或其它型痴呆。

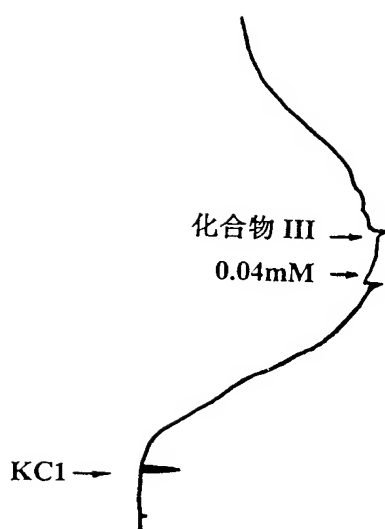


Fig. 1

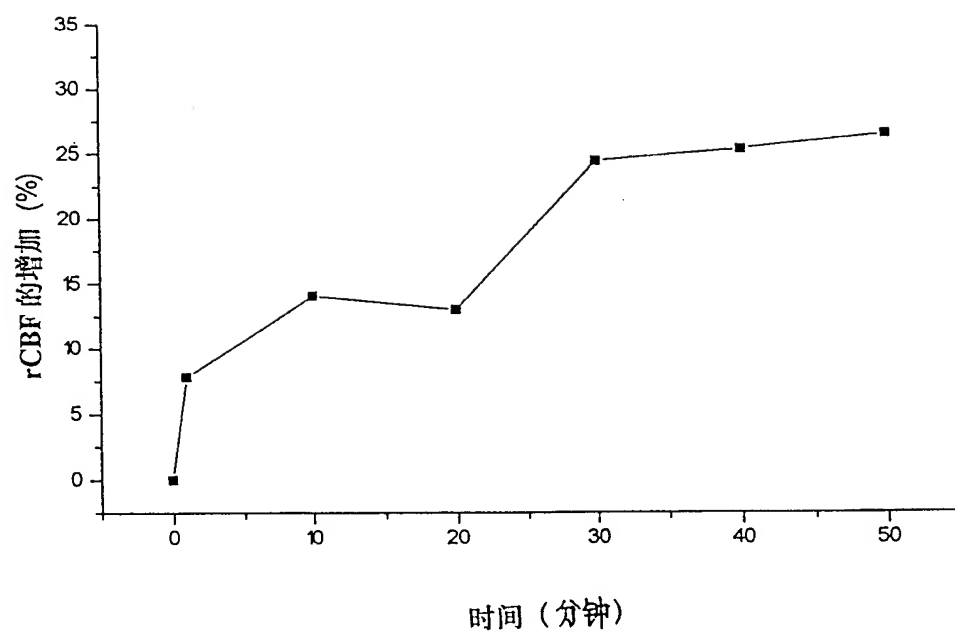
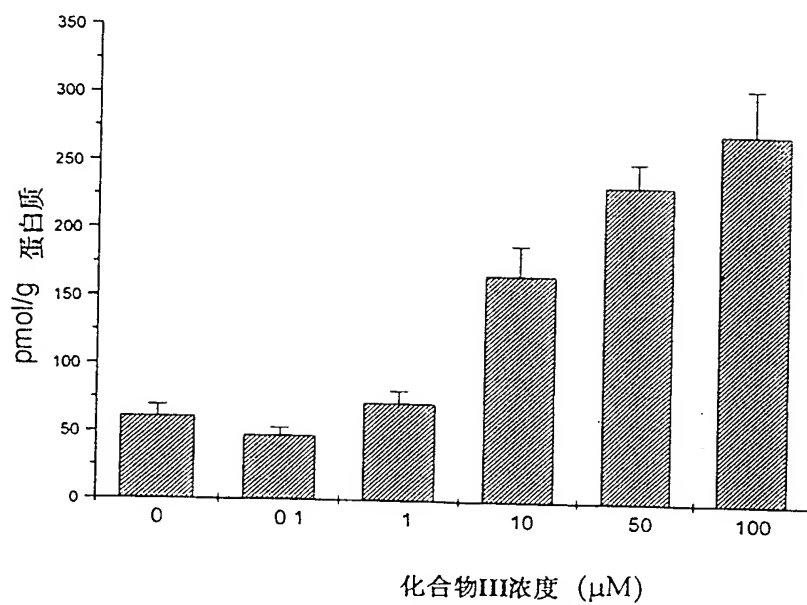


Fig. 2



[³H] 烟碱与用化合物 III 处理的 M10 细胞的专一结合

Fig. 3

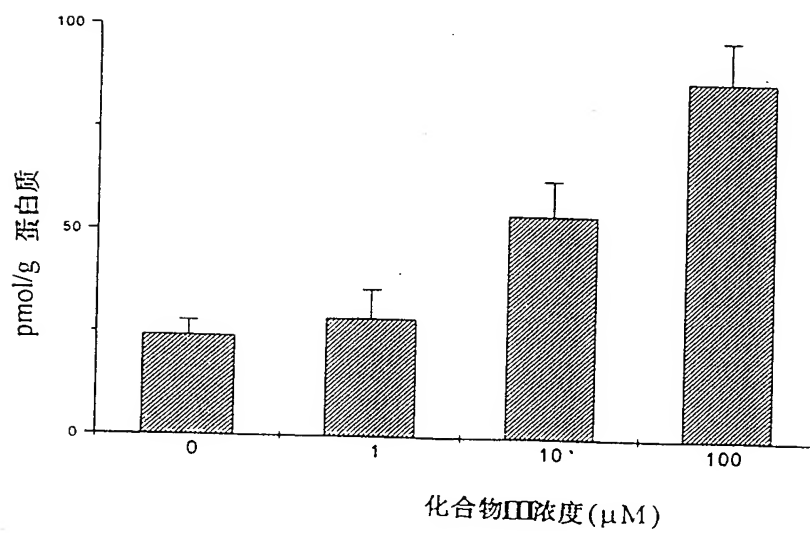


Fig. 4

[³H] Epibatidine 与用化合物 III 处理的 SY - SY5Y 细胞的专一结合

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No.
 PCT/CN98/00204

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

 IPC⁶ C07J17/00,C07J43/00,C07J51/00,A61K31/58

According to International Patent Classification(IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched(classification system followed by classification symbols)

 IPC⁶ C07J17/00,C07J43/00,C07J51/00,C07J21/00,C07J19/00,A61K31/58

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the field searched

Electronic data base consulted during the international search(name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI,CNPAT,PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant claim No.
A	EP 0054570A1,abstract	2,15-16,18
A	WO97/31933,abstract	2,15-16,18

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason(as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 December 1998 (10.12.98)

Date of mailing of the international search report

14 JAN 1999 (14.01.99)

Name and mailing address of the ISA/

 The Chinese Patent Office
 6, Xitucheng Road, Haidian District,
 Beijing, 100088, China

Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

Jia shujin

Telephone No. 86-10-62093713

International application No.
IEC980015PCT

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- Remark on Protest** ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family member

International application No.
PCT/CN98/00204

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 97/31933 EP 0054570	1997 - 9 - 4	AU 65334/96	1997 - 9 - 16
	1982 - 6 - 30		
		NL8004751	1981-02-25
		FR2463620	1981-02-27
		SE8005919	1981-03-27
		GB2060379	1981-05-07
		DE3031745	1981-05-27
		BE887793	1981-07-01
		WO8102577	1981-09-17
		AU6780081	1981-09-23
		JP56123999	1981-09-29
		JP62051277B	1987-10-29
		JP1442798C	1988-06-08
		JP56169700	1981-12-26
		JP63052638B	1988-10-19
		JP1506917C	1989-07-13
		JP57018700	1982-01-30
		JP63052639B	1988-10-19
		JP1555593C	1990-04-23
		US4320120	1982-03-16
		JP57048998	1982-03-20
		JP62056160B	1987-11-24
		JP1449098C	1988-07-11
		SE8202140	1982-04-02
		EP0054570	1982-06-30
		EP810900551	
		NL8120043	1982-07-01
		GB2093032	1982-08-25
		CA1144917	1983-04-19
		US4452786	1984-06-05
		CA1169852	1984-06-26
		CH647533	1985-01-31

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN98/00204

A. 主题的分类

Int.Cl⁶ C07J17/00,C07J43/00,C07J51/00,A61K31/58

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号)

C07J17/00;C07J43/00,C07J51/00,C07J53/00,C07J21/00,C07J19/00,A61K31/58

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词)

WPI,CNPAT,PAJ

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求编号
A	EP 0054570A1,摘要	2,15-16,18
A	WO97/31933,摘要	2,15-16,18

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的专用类型:

“A” 明确叙述了被认为不是特别相关的一般现有技术的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先的申请或专利

“L” 可能引起对优先权要求的怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布的在后文件, 它与申请不相抵触, 但是引用它是为了理解构成发明基础的理论或原理

“X” 特别相关的文件, 仅仅考虑该文件, 权利要求所记载的发明就不能认为是新颖的或不能认为是有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 权利要求记载的发明不具有创造性

“&” 同族专利成员的文件

国际检索实际完成的日期

1998 年 12 月 10 日
(10.12.98)

国际检索报告邮寄日期

14. 1月 1999(14.01.99)

国际检索单位名称和邮寄地址

中国专利局
中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088)

传真号: 86-10-62019451

受权官员

贾书瑾

电话号码: 86-10-62093713

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN98/00204

第I栏 关于某些权利要求不能作为检索主题的意见(接第1页第1项)

按条约 17(2)(a)对某些权利要求未作国际检索报告的理由如下:

1. ☒ 权利要求(编号): 1,3-14,17,19,20

因为它们涉及到不要求本国际检索单位检索的主题,即:

疾病的治疗方法

2. ☐ 权利要求(编号):

因为它们涉及到国际申请中不符合规定的要求的部分,以至于不能进行任何有意义的国际检索,具体地说:

3. ☐ 权利要求(编号):

因为它们是从属权利要求,并且没有按照细则 6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

第II栏 关于缺乏发明单一性时的意见(接第1页第2项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明,即:

1. ☐ 由于申请人按时缴纳了所要求缴纳的全部附加检索费,本国际检索报告针对全部可作检索的权利要求。
2. ☐ 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求都进行检索,本国际检索单位未通知缴纳任何附加费。
3. ☐ 由于申请人仅按时缴纳了部分所要求缴纳的附加检索费,本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求。具体地说,是权利要求(编号):
4. ☐ 申请人未按时缴纳所要求的附加检索费。因此,本国际检索报告仅涉及权利要求中首先提到的发明;包含该发明的权利要求是(编号):

关于异议的说明: ☐ 申请人的异议书随附加检索费同时提交。

☐ 支付附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利成员的情报

国际申请号
PCT/CN98/00204

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利成员	公布日期
WO 97/31933 EP 0054570	1997 年 9 月 4 日	AU 65334/96	1997 - 9 - 16
	1982 年 6 月 30 日		
		NL8004751	1981-02-25
		FR2463620	1981-02-27
		SE8005919	1981-03-27
		GB2060379	1981-05-07
		DE3031745	1981-05-27
		BE887793	1981-07-01
		WO8102577	1981-09-17
		AU6780081	1981-09-23
		JP56123999	1981-09-29
		JP62051277B	1987-10-29
		JP1442798C	1988-06-08
		JP56169700	1981-12-26
		JP63052638B	1988-10-19
		JP1506917C	1989-07-13
		JP57018700	1982-01-30
		JP63052639B	1988-10-19
		JP1555593C	1990-04-23
		US4320120	1982-03-16
		JP57048998	1982-03-20
		JP62056160B	1987-11-24
		JP1449098C	1988-07-11
		SE8202140	1982-04-02
		EP0054570	1982-06-30
		EP810900551	
		NL8120043	1982-07-01
		GB2093032	1982-08-25
		CA1144917	1983-04-19
		US4452786	1984-06-05
		CA1169852	1984-06-26
		CH647533	1985-01-31